

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1942

N°

80

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

par

HENRI HÉRISSEY

Pharmacien de 1^{re} classe.

Docteur de l'Université de Paris (Pharmacie).

Docteur ès-sciences naturelles.

Docteur *honoris causa* de la Faculté de Médecine de l'Université de Bruxelles

Docteur *honoris causa* de la Faculté de Médecine de l'Université de Liège.

Né à Évreux (Eure), le 13 mai 1873.

Présentée et soutenue publiquement le 22 AVR. 1942 1942

SUR

LE LUSITANICOSIDE

Hétéroside extrait du Laurier de Portugal

Cerasus lusitanica LOIS. et sur quelques autres principes
immédiats de cette dernière plante.

Président : Le Doyen A. BAUDOUIN, Professeur

MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS VI^e

1942

SUR
LE LUSITANICOSIDE

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1942

N^o

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

par

HENRI HÉRISSEY

Pharmacien de 1^{re} classe.

Docteur de l'Université de Paris (Pharmacie).

Docteur ès-sciences naturelles.

Docteur *honoris causa* de la Faculté de Médecine de l'Université de Bruxelles

Docteur *honoris causa* de la Faculté de Médecine de l'Université de Liège.

Né à Évreux (Eure), le 13 mai 1873.

Présentée et soutenue publiquement le 1942

SUR

LE LUSITANICOSIDE

Hétéroside extrait du Laurier de Portugal

Cerasus lusitanica LOIS. et sur quelques autres principes
immédiats de cette dernière plante.

Président : Le Doyen A. BAUDOUIN, Professeur

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS VI^e

===== 1942 =====

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIÈRE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	POLONOVSKI.
Bactériologie	GASTINEL.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	N...
Pathologie chirurgicale	QUÉNU.
Anatomie pathologique	LEROUX.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	AUBERTIN.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	DUVOIR.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LÉVY-VALENSI.
Pathologie expérimentale et comparée	Henri BENARD.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	CHIRAY.
Clinique médicale	ABRAMI.
	FIESSINGER.
	HARVIER.
	P.-VALLERY-RADOT.
Hygiène et clinique de la première enfance	CATHALA.
Clinique des maladies des enfants	Robert DEBRÉ.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	LAIGNEL-LAVASTINE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	LEMIERRE.
	CADENAT.
Clinique chirurgicale	GOSSET.
	LENORMANT.
	MONDOR.
Clinique ophtalmologique	VELTER.
Clinique urologique	CHEVASSU.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements	LÉVY-SOLAL.
	PORTES.
Clinique gynécologique	MOCQUOT.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	LEVEUF.
Clinique thérapeutique médicale	LOEPER.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	BROCQ.
Clinique propédeutique	M. VILLARET.
Clinique de la tuberculose	TROISIER.
Clinique chirurgicale orthopédique	MATHIEU.
Clinique de cardiologie	DONZELOT.
Clinique de neuro-chirurgie	Clovis VINCENT.
Assistance médico-sociale	N ..
	DOGNON.
	GIROUD.
Professeurs sans chaire	HAZARD.
	JAYLE.
	JOANNON.
	OLIVIER.
	VERNE.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.	
AMELINE . . .	Pathologie chirurgicale.
BARIÉTY . . .	Pathologie médicale.
BERNARD (Étienne).	Pathologie médicale.
BESANÇON (Justin).	Hydrologie.
BONNET . . .	Bactériologie
BOULIN . . .	Pathologie médicale.
BROUET . . .	Pathologie médicale.
BULLIARD . . .	Histologie.
CACHERA . . .	Pathologie médicale.
CORDIER . . .	Anatomie.
COSTE . . .	Pathologie médicale.
COUVELAIRE (Roger).	Urologie.
DELARUE . . .	Anatomie pathologique.
DELAY . . .	Pathologie médicale.
DESGREZ (H.).	Physique.
DESOILLE . . .	Médecine légale.
DIGONNET . . .	Obstétrique.
FÈVRE . . .	Pathologie chirurgicale.
FUNCK-BRENTANO .	Pathologie chirurgicale.
GALLIARD . . .	Parasitologie.
GARCIN . . .	Pathologie médicale.
M ^{lle} GAUTHIER- VILLARS . . .	Anatomie pathologique.
DE GENNES . .	Pathologie médicale.

MM.	
HAGUENAU . . .	Pathologie médicale.
LACOMME . . .	Obstétrique.
LANTUÉJOUL . .	Obstétrique.
LAVIER . . .	Parasitologie.
LELONG . . .	Pathologie médicale.
LEMAIRE . . .	Pathologie expérimentale.
LENÈGRE . . .	Pathologie médicale.
M ^{lle} J. LÉVY . . .	Pharmacologie.
MARCHAL . . .	Pathologie médicale.
MÉNÉGAUX . . .	Pathologie chirurgicale.
MOLLARET . . .	Pathologie médicale.
MOUQUIN . . .	Pathologie médicale.
PATEL . . .	Pathologie chirurgicale.
PETIT-DUTAILLIS .	Pathologie chirurgicale.
RENARD . . .	Ophthalmologie.
RICHET . . .	Physiologie.
SÈNÈQUE . . .	Pathologie chirurgicale.
SICARD . . .	Pathologie chirurgicale.
SOULIE . . .	Pathologie médicale.
SUREAU . . .	Obstétrique.
TURPIN . . .	Pathologie médicale.
WILMOTH . . .	Pathologie chirurgicale.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.	
ALGLAVE . . .	Pathologie chirurgicale.
CHAILLEY-BERT . .	Physiologie.
GUÉNIOT . . .	Obstétrique.
HEITZ-BOYER . .	Pathologie chirurgicale.
HUGUENIN . . .	Anatomie pathologique.

MM.	
LE LORIER . . .	Obstétrique.
NEVEU- LEMAIRE . . .	Parasitologie.
PIEDELIEVRE . .	Médecine légale.
VAUDESCAL . . .	Obstétrique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent

MM.		MM.	
ALAJOUANINE	} Clinique médicale	BASSET	} Clinique chirurgicale.
BRULÉ		GATELLIER	
CHABROL		de GAUDART	
CHEVALLIER		d'ALLAINES	
LAROCHE (Guy)		MOULONGUET	
LIAN		MOURE	
MOREAU			
SÉZARY			

MM.	
ECALLE	} Clinique obstétricale.
VIGNES	

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.	
CHAILLEY-BERT, agrégé	Éducation physique
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique
DECHAUME,	Stomatologie
N...	Puériculture

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans des dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE DOYEN BAUDOUIN
AUX MEMBRES DE MON JURY DE THÈSE

*Hommage de sincère reconnaissance
et de fidèle attachement.*

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

A MA FEMME



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551805_0028

INTRODUCTION

Je me propose, dans le présent travail, de rassembler des recherches relatives à un certain nombre de principes immédiats rencontrés chez une plante de la famille des Rosacées, tribu des Prunées. A côté de résultats acquis depuis longtemps et déjà publiés, j'aurai l'occasion d'en présenter plusieurs autres qui n'ont pas encore vu le jour.

La plante qui fait l'objet de ces recherches est le Laurier de Portugal, *Cerasus lusitanica* LOIS. (syn. : *Prunus lusitanica* L.), arbuste assez répandu dans les jardins paysagers de France. Il est ainsi décrit dans la *Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique*, de Gaston BONNIER, III, p. 95 : « Ce petit arbre qui n'atteint guère que 4 à 6 mètres de hauteur est extrêmement rare dans notre Flore, à l'état spontané, mais on peut le rencontrer dans les bois ou parfois dans les haies à l'état subspontané. Ses fleurs blanches se montrent en mai et en juin ; ses fruits sont mûrs en juillet et août. On reconnaît cette espèce à ses fleurs disposées en grappes simples, allongées et étroites, toujours dressées qui ont plus de deux fois la longueur de la feuille à l'aisselle de laquelle elles se trouvent, et à ses feuilles luisantes, coriaces, assez épaisses, persistant pendant plusieurs années, d'un vert sombre, à pétioles sans nectaires glanduleux, bordées de dents assez peu serrées et peu prononcées. Les fruits ont moins de 9 millimètres de largeur et sont de forme ovoïde, aigus au sommet ; leur couleur passe du vert au rouge puis devient noirâtre ; leur saveur est acide et amère. (On a trouvé des exemplaires présentant des fruits doubles.) »

C'est parce qu'un exemplaire bien développé de Laurier de Portugal existait dans mon jardin sis au Boulay-Morin, près d'Évreux (Eure), que j'ai été incité à faire sur cette espèce quelques essais sommaires, relatifs aux principes immédiats susceptibles d'y être contenus et d'être décelés par des méthodes biochimiques (1). Les premières recherches ayant abouti à des résultats présageant une intéressante moisson, je les ai poursuivies assez longuement. Leur exposé constitue la matière de cette thèse que je ne crois pas indigne d'être présentée à la Faculté de Médecine de Paris. L'étude des principes immédiats des végétaux peut, en effet, dans des circonstances heureuses, apporter à la thérapeutique des éléments utiles, dont celle-ci ne manque pas alors de faire son profit. Ce ne sera peut-être pas le cas pour la plante qui nous occupe. Sa composition immédiate ne manque toutefois pas d'intérêt et, à ce titre, la connaissance n'en saurait être négligée.

(1) Le chercheur est obligé de limiter ses recherches aux seuls objets qu'il peut avoir à sa disposition. Cette remarque explique pourquoi, dans ce cas comme dans beaucoup d'autres, mes recherches en chimie végétale ont surtout porté sur des plantes indigènes très répandues ou faciles à se procurer.

PREMIÈRE PARTIE

RECHERCHES CHIMIQUES

CHAPITRE PREMIER

LE LUSITANICOSIDE

HÉTÉROSIDE EXTRAIT DU LAURIER DE PORTUGAL

Au cours du printemps de 1929, utilisant la méthode biochimique (1) de recherche des hétérosides dédoublables par l'émulsine, j'ai constaté que ce ferment, agissant sur une solution aqueuse contenant les principes solubles du Laurier de Portugal, détermi-

(1) Il serait hors de propos de décrire ici les techniques qui permettent d'utiliser les ferments solubles (enzymes ou diastases) en vue de la découverte et de l'extraction des principes immédiats sur lesquels ces agents biologiques sont précisément susceptibles d'exercer leur action. Le travail initial sur cette question a été publié par Em. BOURQUELOT sous le titre : « Recherche, dans les végétaux, du sucre de canne, à l'aide de l'invertine et des glucosides à l'aide de l'émulsine » ; *C. R. Soc. Biol.*, III, 909, 1901 ; *C. R. Ac. Sc.*, CXXXIII, 690, 1901 ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], XIV, 481, 1901.

Mon maître BOURQUELOT, dont je fus, pendant 26 années, le collaborateur fidèle, m'avait associé à ses recherches dans l'élaboration et le développement de ces méthodes que j'ai beaucoup contribué à répandre par l'exemple et par l'enseignement. Elles ont rendu et continuent à rendre d'incalculables services aux chimistes et aux biologistes, en leur fournissant des résultats auxquels l'emploi d'autres méthodes ne serait pas susceptible de les conduire. Pour ma part, je les ai exposées dans maintes publications parmi lesquelles je citerai les suivantes, qui les envisagent à des points de vue variés :

Les Glucosides. — Conférences faites au Laboratoire du Professeur Charles MOUREU, au Collège de France, les 13 et 20 janvier 1922 ; *Bull. Soc. chim.*, 1923.

Quelques aperçus sur la recherche, la caractérisation et le dosage d'hétérosides végétaux. — Conférence faite au Congrès de Pharmacie de Liège, 8 août 1930 ; *Journ. Pharm. Belg.*, XII, 1167, 1930.

Généralités sur les hétérosides (en collaboration avec J. RABATÉ) ; article du *Traité de Chimie organique* publié sous la direction des Professeurs V. GRIGNARD, G. DUPONT et R. LOCOUIN (tome VIII, 547-616, Paris, 1938).

Méthodes d'études dans le groupe des hétérosides naturels. — Conférences faites

nait un fort retour vers la droite de la rotation polarimétrique de la liqueur primitive, ce qui indiquait la présence, dans cette dernière, d'un ou de plusieurs principes hétérosidiques hydrolysables par le ferment. Voici l'essai qui m'a conduit à cette conclusion :

Des rameaux feuillus frais (1), récoltés le 26 avril 1929, ont été traités tels quels, à l'ébullition à reflux, par de l'alcool à 85° employé dans la proportion de 1.000 cm³ d'alcool pour 100 g. de rameaux. Les ferments solubles ayant été ainsi détruits, la plante a été broyée après refroidissement et traitée à nouveau, à reflux, par la même colature alcoolique. Les liqueurs alcooliques obtenues par décantation et expression du marc, après lavage de ce dernier par de l'alcool neuf, ont été distillées. Le résidu extractif a été repris par de l'eau, de façon à obtenir une colature aqueuse dont 100 cm³ correspondaient à 100 g. de rameaux feuillus frais. Cette colature, trouble, a été agitée avec environ les deux tiers de son volume d'éther, puis filtrée ; elle a été ensuite soumise aux actions successives de l'invertine de la levure haute de bière et de l'émulsine d'amande, à la température du laboratoire.

Cette colature, après défécation par un demi-volume d'extrait de Saturne, donnait les résultats suivants, ramenés au volume primitif de la liqueur non déféquée :

<i>Liqueur primitive</i> (100 cm ³ = 100 g. plante fraîche)	<i>Rotation polarimétrique</i> (l = 2)	<i>Produits réducteurs exprimés en glucose, pour 100 cm³</i>
Avant l'essai	— 1°12'	0 g., 6870
Après action de l'invertine (4 jours) ..	— 6°	3 g., 0045
Après action de l'émulsine (1 jour).	— 5°3'	3 g., 4207
» » (17 jours).	— 4°9'	4 g., 1850
» » (643 jours).	— 2°45'	5 g., 2968

en Hollande, aux Universités d'Amsterdam, de Groningue, de Leyde et d'Utrecht ; mars 1934.

Utilisation des diastases au laboratoire du chimiste. — Conférence faite à l'occasion du Cinquantenaire de l'Institut de Pharmacie Gilkinet, Liège, 1934 ; *Congrès de Pharmacie de Liège*, 22, 1934.

Sur quelques techniques favorisant l'extraction des hétérosides naturels ; *Bull. Acad. Méd.*, CXXI, 472, 1939.

(1) Il s'agissait de rameaux jeunes, pourvus de feuilles dans toute leur longueur ; en effet, ils avaient été sectionnés immédiatement au-dessous de la dernière feuille inférieure

Remarquons que l'indice de réduction enzymolytique (1) par rapport à l'invertine, soit $\frac{2.317,5}{4,80} = 482$ (puisque'il y a eu formation de $3,0045 - 0,6870 = 2$ g., 3175 de sucre réducteur avec un changement polarimétrique de $4^{\circ}48' = 4^{\circ},80$) ne correspond pas à l'indice de réduction enzymolytique du saccharose qui est d'environ 605 à la température de 16° . Sans nous arrêter à cette observation qui montre, en tout cas, que le saccharose ne doit pas être le seul sucre en cause, nous voyons surtout que l'émulsine, dont l'action s'est longtemps prolongée, a déterminé un retour vers la droite de $3^{\circ}15'$, en même temps qu'il est apparu 2 g., 2928 de substance réductrice exprimée en glucose, ce qui conduit à un indice de réduction enzymolytique *global* de 705, calculé d'après les valeurs trouvées après 643 jours d'action de l'émulsine. Il convient de faire remarquer que l'indice de réduction enzymolytique a subi d'importantes variations au cours de l'action de ce dernier ferment, comme on peut le constater, en le calculant d'après les valeurs respectives des rotations et des quantités de sucre réducteur, trouvées aux divers temps du long essai rapporté ci-dessus.

Ce qu'il faut surtout retenir de cet essai, c'est la preuve de l'existence, en assez forte proportion, dans le Laurier de Portugal, de principes hétérosidiques dont la présence n'avait pas encore été signalée. Il était dès lors indiqué de pousser l'étude du bloc hétérosidique ainsi mis en lumière, en cherchant à en extraire au moins le principal produit constitutif.

Il serait fastidieux de décrire ici en détail les essais nombreux auxquels nous nous sommes livré dans ce but ; nous ne relaterons que quelques points intéressants au point de vue de l'orientation des recherches qui ont conduit au résultat désiré.

Tout d'abord, nous avons constaté que le principe hétérosidique cherché devait être très soluble dans l'eau et dans l'alcool et que, par suite, le traitement primitif de la plante fraîche pouvait être effectué, soit par l'eau bouillante, soit par l'alcool bouillant.

(1) Je rappelle que l'indice de réduction enzymolytique d'un corps hydrolysable, par rapport à la diastase qui l'hydrolyse, peut être défini : le poids, en milligrammes, des produits réducteurs, exprimés en glucose, formés dans 100 cm³ de la solution du corps examiné, sous l'influence du ferment correspondant, pour un changement de rotation de 1° , observé au tube de deux décimètres.

Nous avons reconnu, en outre, que les extraits obtenus par concentration des liqueurs aqueuse ou alcoolique cédaient plus ou moins complètement l'hétéroside qu'ils contenaient soit à l'acétone, soit à l'éther acétique bouillants (1).

L'acétone entraînait proportionnellement plus d'hétéroside, mais les solutions acétoniques paraissaient plus impures que celles obtenues avec l'éther acétique. Même après un long temps, ces diverses liqueurs concentrées ne donnaient lieu d'ailleurs à aucune cristallisation.

Nous avons tout naturellement pensé que cet insuccès tenait à ce que les extraits de *C. lusitanica* sont très riches en impuretés précipitables par le sous-acétate de plomb et que nous réussirions sans doute beaucoup mieux en agissant sur des extraits convenablement déféqués. Mais alors se présentaient plusieurs difficultés : tout d'abord, d'une façon générale, il est toujours dangereux d'utiliser, pour l'extraction d'hétérosides sur les propriétés desquelles on n'est pas exactement fixé, des déféquants qui peuvent isomériser, altérer et quelquefois même détruire le corps cherché ; à ce point de vue, l'unique emploi de dissolvants neutres pour l'extraction des hétérosides est la méthode rêvée, mais non toujours réalisable. Dans le cas présent, nous avons constaté que l'extrait de Saturne ne précipitait pas l'hétéroside de ses solutions extractives aqueuses, mais la défécation de ces dernières nécessitait des quantités relativement considérables de réactif, ce qui entraînait la formation d'abondants précipités plombiques dont la séparation ne pouvait se faire sans de grandes difficultés et sans entraîner de grosses pertes. C'est pour parer à ces divers inconvénients que j'ai dû chercher à mettre sur pied une technique d'extraction qui m'a donné d'excellents résultats. Cette technique consiste essentiellement à obtenir une *poudre déféquée*, sans que soient nécessaires des filtrations toujours pénibles du fait de l'emploi des déféquants et sans qu'il soit besoin d'évaporer les liqueurs

(1) L'extrait aqueux ou alcoolique de *C. lusitanica* était traité à l'ébullition à reflux par l'acétone ou l'éther acétique. Après refroidissement, la liqueur d'épuisement était distillée et le résidu de la distillation était repris par l'eau. Sur la solution aqueuse ainsi obtenue, on faisait des déterminations polarimétriques, en même temps que des essais d'hydrolyse par l'émulsine et par l'acide sulfurique dilué ; on pouvait ainsi suivre facilement le passage de l'hétéroside dans le dissolvant considéré.

extractives en présence de réactifs nocifs pour les principes cherchés.

Avant d'exposer comment nous avons appliqué cette technique à l'extraction de l'hétéroside du Laurier de Portugal, nous devons signaler que des essais pratiqués sur la plante convenablement séchée à l'air libre nous avaient montré la persistance de l'hétéroside dans cette dernière. C'est ainsi que des feuilles sèches, traitées directement par l'éther acétique bouillant, nous avaient fourni des liqueurs donnant, après évaporation, un extrait riche en hétéroside puisque, dans certains cas, nous avons obtenu des rotations de près de -10° ($l = 2$), dans des solutions aqueuses dont 100 cm^3 contenaient l'extrait éthéro-acétique provenant de 100 g. de feuille sèche (1).

EXTRACTION D'UN HÉTÉROSIDE
DU LAURIER DE PORTUGAL (2)

Nous indiquerons seulement un type de préparation, en rappelant qu'on peut partir de la plante fraîche ou de la plante sèche et que, pour le traitement initial, on peut utiliser indifféremment l'eau ou l'alcool bouillants.

1.000 g. de feuille sèche pulvérisée sont traités par 10.000 cm^3 d'alcool à 80° bouillant ; après refroidissement, on fait, sur le marc de cette première opération, un second traitement identique, avec 5.000 cm^3 du même alcool. Les liqueurs alcooliques sont distillées

(1) Voici quelques chiffres relatifs au rendement des rameaux frais de Laurier de Portugal en produit sec :

I. 200 g. de rameaux feuillus récoltés le 5 janvier 1932 au Boulay-Morin (Eure) ont fourni, après dessiccation à l'air libre, 95 g. de produit sec total, soit $47,5 \text{ p. } 100$ de végétal frais ; ce produit sec comprenait 16 g. de ramilles et 79 g. de feuilles, soit $39,5 \text{ p. } 100$ du produit frais initial.

II. 330 g. de rameaux feuillus, récoltés le 17 janvier 1932 sur le même arbuste, ont fourni 152 g. de produit sec, soit $46 \text{ p. } 100$, se partageant en 32 g. de rameaux nus et 120 g. de feuilles, soit $36,3 \text{ p. } 100$.

III. 400 g. de rameaux feuillus, récoltés le 23 février 1932 sur le même arbuste, ont fourni 190 g. de produit sec, soit $47,5 \text{ p. } 100$, se partageant en 35 g. de rameaux et 155 g. de feuilles, soit $38,7 \text{ p. } 100$.

(2) En raison de l'aide matérielle que M. J. LAFOREST m'a apportée au cours de cette préparation, j'ai associé son nom au mien dans la publication du travail : « Sur un hétéroside extrait du Laurier de Portugal, *Cerasus lusitanica* LOIS. » ; C. R. Ac. Sc., CXCIV, 1095, 1932 ; Bull. Soc. Chim. biol., XV, 350, 1933.

en présence d'un peu de carbonate de calcium. Le résidu de la distillation est amené avec de l'eau au volume de 1.500 cm³ environ et la solution aqueuse, agitée avec 5 cm³ de toluène, est laissée en repos pendant 24 heures. La liqueur aqueuse, séparée par décantation du dépôt qui a pu s'y former, est alors agitée avec environ 500 cm³ d'éther. La solution aqueuse sous-jacente est ensuite filtrée, puis évaporée, soit sous pression réduite, soit à une douce chaleur, au bain-marie, en présence de quelques grammes de carbonate de calcium, jusqu'à un volume d'au plus 1.000 cm³, il n'y a d'ailleurs aucun inconvénient à pousser l'évaporation jusqu'à 750 ou 500 cm³.

L'extrait liquide ainsi obtenu, versé dans un mortier, est additionné successivement de 750 cm³ de sous-acétate de plomb liquide, de 1.000 g. de sulfate de sodium anhydre et de 250 g. de carbonate de calcium, en ayant soin d'opérer une sérieuse trituration de la masse entre chaque addition des produits mentionnés. Au bout d'un temps qui varie de quelques minutes à plusieurs heures, le mélange a pris une consistance demi-solide ; on le sort alors du mortier et, après l'avoir divisé, on l'étale dans une cuvette de porcelaine plate ; on l'abandonne ainsi, dans une atmosphère sèche, à une dessiccation spontanée. Lorsque le produit ne perd plus de poids, on le pulvérise finement, par exemple en le passant au moulin.

La poudre ainsi obtenue (*poudre déféquée*) est traitée à l'ébullition à reflux par l'éther acétique (1.000 cm³ p. 100 g. de feuille sèche initiale). La solution éthéro-acétique, filtrée après refroidissement, est distillée jusqu'à apparition d'un léger trouble dans la liqueur et décantée dans un flacon à large ouverture bouchant à l'émeri. Le plus souvent, le liquide se prend alors par refroidissement en une gelée semi-consistante ; il suffit d'ajouter une trace d'eau (0 g., 20 p. 100 cm³ de liquide) et d'amorcer avec l'hétéroside du *C. lusitanica* (1) pour voir la masse gélatineuse se transformer peu à peu en cristaux légers à peine incolores. On répète le traitement de la poudre déféquée par l'éther acétique bouillant tant que les liqueurs obtenues abandonnent, par concentration, une nouvelle quantité de produit. Nous avons donné à ce dernier le nom de *lusitanicoside*.

(1) Les premiers cristaux ont été obtenus plus de deux ans après le début des recherches, par superposition d'éther à une solution éthéro-acétique de l'hétéroside.

La cristallisation est complète en 2 à 3 jours ; les cristaux sont recueillis par essorage à la trompe et séchés à l'air. Il nous est difficile d'indiquer avec précision le rendement obtenu, celui-ci étant, en particulier, sujet à varier suivant l'époque de récolte de la matière première employée ; il n'est en tout cas jamais négligeable car il ne descend guère au-dessous de 10 g. p. 1.000 g. de feuille sèche.

Pour purifier le *lusitanicoside*, on peut le faire recristalliser une ou plusieurs fois, en présence de noir animal, dans de l'éther acétique anhydre, additionné au moment du besoin de 0 cm³, 20 d'eau p. 100 cm³ ; on emploie environ 1.000 cm³ de dissolvant bouillant p. 10 g. de produit ; il y a intérêt à respecter la proportion d'eau indiquée, car un éther acétique plus hydraté dissout à l'ébullition des quantités notables d'hétéroside, mais ce dernier, au lieu de donner, par refroidissement, des cristaux légers emplissant toute la masse du liquide, se précipite sous forme d'un sirop se transformant lentement en un magma cristallin (1).

PROPRIÉTÉS DU LUSITANICOSIDE

D'une manière générale, ces propriétés ont été déterminées sur un produit recristallisé deux fois dans l'ester acétique, ayant donc subi trois cristallisations.

Propriétés physiques. — Il se présente au microscope sous forme de longues aiguilles incolores plus ou moins feutrées.

Après dessiccation complète à l'air, il ne perd sensiblement pas de poids lorsqu'on le chauffe dans l'étuve à eau bouillante.

Il est combustible sans résidu.

Il est inodore ; sa saveur est légèrement amère.

(1) La nécessité d'ajouter l'éther acétique de petites quantités d'eau pour obtenir le *lusitanicoside* cristallisé semble bien indiquer que ce dernier se forme à l'état hydraté dans la liqueur mère. Par contre, on verra plus loin qu'après dessiccation à l'air, il apparaît à l'état anhydre.

On peut faire également recristalliser, dans l'alcool à 95-96°, le *lusitanicoside* obtenu d'abord par l'éther acétique ; on emploie 5 cm³ d'alcool pour 1 g. de l'hétéroside ; mais, dans ces conditions, beaucoup de produit reste dans les eaux-mères.

D'autre part, abandonné à l'air après essorage, encore imprégné d'alcool, le *lusitanicoside* ne tarde pas à se liquéfier plus ou moins complètement par suite de l'appel de l'humidité atmosphérique par l'alcool ; il faut, immédiatement après l'avoir recueilli, le mettre dans le vide sulfurique ; il devient alors très stable à l'air, comme l'est le produit cristallisé dans l'éther acétique.

Il fond au tube capillaire à 187-188°.

Il est extrêmement soluble dans l'eau, assez soluble dans l'alcool à 95°, peu soluble dans l'éther acétique froid, insoluble dans l'éther.

La détermination du pouvoir rotatoire, faite en solution aqueuse sur plusieurs échantillons de produit complètement séché à l'air, a donné les résultats suivants :

Produits ayant subi seulement 2 cristallisations :

- I. $[\alpha]_D = -73^{\circ},52$ ($v = 25 \text{ cm}^3$, $l = 2$, $p = 0 \text{ g.}$, 9973, $\alpha = -5^{\circ}52'$).
- II. $[\alpha]_D = -73^{\circ},37$ ($v = 10 \text{ cm}^3$, $l = 2$, $p = 0 \text{ g.}$, 4295, $\alpha = -6^{\circ}12'$).
- III. $[\alpha]_D = -73^{\circ},93$ ($v = 25 \text{ cm}^3$, $l = 2$, $p = 1 \text{ g.}$, 3920, $\alpha = -8^{\circ}14'$).

Produits de 3^e cristallisation :

- IV. $[\alpha]_D = -74^{\circ},69$ ($v = 25 \text{ cm}^3$, $l = 2$, $p = 0 \text{ g.}$, 9984, $\alpha = -5^{\circ}58'$).
- V. $[\alpha]_D = -74^{\circ},38$ ($v = 25 \text{ cm}^3$, $l = 2$, $p = 0 \text{ g.}$, 9970, $\alpha = -5^{\circ}56'$).
- VI. $[\alpha]_D = -74^{\circ},44$ ($v = 50 \text{ cm}^3$, $l = 2$, $p = 1 \text{ g.}$, 9925, $\alpha = -5^{\circ}56'$).
- VII. $[\alpha]_D = -74^{\circ},71$ ($v = 50 \text{ cm}^3$, $l = 2$, $p = 1 \text{ g.}$, 0150, $\alpha = -3^{\circ}02'$).

Produit obtenu par l'éther acétique, recristallisé dans l'alcool à 95-96° :

- VIII. $[\alpha]_D = -73^{\circ},74$ ($v = 15 \text{ cm}^3$, $l = 2$, $p = 0 \text{ g.}$, 4610, $\alpha = -4^{\circ}32'$).

Propriétés chimiques. — Le lusitanicoside ne donne pas de cyanure par fusion avec le sodium ; il n'est donc pas azoté.

Traité à l'état pulvérulent par l'acide chlorhydrique, la lessive de soude, l'ammoniaque, l'eau de brome, le perchlorure de fer, il ne donne lieu à aucune réaction colorée.

L'acide sulfurique le dissout en donnant une liqueur rouge-brun qui se décolore par addition d'eau. A froid, on n'observe aucune coloration avec l'acide azotique ; par chauffage au bain-marie bouillant, on obtient un résidu jaune citron donnant avec l'eau une solution fortement colorée en jaune.

La solution aqueuse de lusitanicoside ne donne pas de précipité avec le sous-acétate de plomb.

Le lusitanicoside n'est pas réducteur : un essai, pratiqué suivant la technique de BERTRAND, avec 0 g., 2026 d'hétéroside, n'a donné lieu à aucune réduction de la liqueur cupro-alkaline.

Hydrolyse par les acides. — Les acides minéraux, dilués et bouillants, hydrolysent assez rapidement le lusitanicoside.

Ainsi, on a maintenu dans l'eau bouillante, pendant 3 heures 30 minutes, en tube scellé, 20 cm³ d'une solution aqueuse contenant, pour 100 cm³, 2 g., 50 d'acide sulfurique et 1 g., 9968 de lusitanicoside. La liqueur, devenue fortement aromatique, s'est troublée par refroidissement ; après filtration, elle a fourni un liquide limpide, incolore, dextrogyre ($\alpha = + 1^{\circ}$, $l = 2$), contenant, pour 100 cm³, 1 g., 4862 de produit réducteur, exprimé en glucose, soit 74,4 p. 100 d'hétéroside.

Remarquons que la rotation observée ne s'accorde pas avec l'hypothèse de la seule présence du glucose d dans la liqueur d'hydrolyse, qui donnerait $\alpha = + 1^{\circ}33'$ ($l = 2$).

Hydrolyse fermentaire. — L'action de l'émulsine (1) s'étant montrée extrêmement lente dans l'essai biochimique rapporté au début de ce travail, nous avons utilisé, pour pratiquer cette hydrolyse, une *poudre fermentaire* obtenue en lixiviant, par l'alcool à 83-84° froid, une poudre de feuilles sèches de *C. lusitanica* récoltées en janvier ; on a employé 800 cm³ d'alcool p. 100 g. de poudre. Cette dernière, après dessiccation à la température ordinaire, a été ensuite mise à macérer pendant 24 heures avec de l'éther (20 cm³ p. 1 g. de poudre), essorée puis séchée à l'air.

I. On a fait agir à la température du laboratoire 0 g., 40 de cette poudre sur 40 cm³ d'une solution aqueuse contenant, pour 100 cm³, 1 g., 9946 de lusitanicoside. La liqueur s'est rapidement troublée, en même temps qu'elle dégagait une odeur nettement plus agréable que celle observée au cours de l'hydrolyse sulfurique. Après 5 jours, l'action du ferment paraissait arrêtée. On a trouvé alors que la liqueur contenait, pour 100 cm³, 0 g., 7920 de matière réductrice exprimée en glucose, soit 39,7 p. 100 d'hétéroside primitif ; la rotation était $- 8'$ ($l = 2$).

II. Après action de 0 g., 50 de poudre fermentaire sur 25 cm³ d'une solution d'hétéroside à 3 g., 9880 p. 100 cm³, pendant 6 jours, dans les mêmes conditions, la liqueur contenait p. 100 cm³, 1 g., 6353 de produit réducteur exprimé en glucose, soit 41,0 p. 100 d'hétéroside primitif.

III. Une solution aqueuse à 3 g., 9850 d'hétéroside p. 100 cm³, additionnée de 2 g. de poudre fermentaire, accusait, après 12 jours, une rotation de $- 12'$ ($l = 2$) et contenait 1 g., 6478 de sucre réducteur, soit 41,3 p. 100 d'hétéroside.

IV. Une solution aqueuse à 2 g., 0300 d'hétéroside p. 100 cm³ additionnée de 1 g. de poudre fermentaire avait, après 3 jours, une teneur en sucre réduc-

(1) L'étude de l'action de l'émulsine sur l'hétéroside pur sera abordée plus loin.

teur de 0 g., 7940, soit 39,1 p. 100 d'hétéroside. Après de nouveau 7 jours, la rotation étant de $\alpha = -6'$ ($l = 2$), la teneur en sucre réducteur s'était élevée à 0 g., 8207, soit 40,4 p. 100 d'hétéroside.

V. Une solution aqueuse à 2 g., 006 d'hétéroside p. 100 cm³, additionnée de 1 g. de poudre fermentaire, donnait après 10 jours 39,3 de sucre réducteur p. 100 d'hétéroside primitif et avait une rotation de $-6'$ ($l = 2$).

Il nous a paru qu'il y avait avantage à ne pas opérer le dédoublement fermentaire sur une solution trop concentrée d'hétéroside nécessitant, pour arriver au dédoublement complet, l'emploi d'une trop forte quantité de poudre fermentaire, susceptible de gêner plus tard l'isolement des composés résultant de l'hydrolyse.

VI. Ainsi, une solution aqueuse contenant, p. 100 cm³, 3 g., 9992 de lusitanicoside et additionnée d'un gramme de poudre fermentaire donnait encore, après 29 jours, une rotation de $-46'$ ($l = 2$) et contenait seulement 1 g., 4279 de sucre réducteur, soit 35,7 p. 100 d'hétéroside primitif.

On voit que l'hydrolyse acide conduit à l'obtention d'une quantité de produit réducteur qui, estimé en glucose, s'élève presque au double de celle que fournit l'hydrolyse fermentaire paraissant arrivée à son terme (essais I à V).

Ces résultats peuvent s'interpréter en admettant que, dans le lusitanicoside, existerait un *holoside* non dédoublable par la poudre fermentaire, mais hydrolysable en *oses* par les acides. Parmi ces oses, ne semblent pas figurer de pentoses, car ni la solution d'hétéroside, ni les liqueurs d'hydrolyse ne nous ont fourni, avec l'orcine chlorhydrique, la réaction colorée, caractéristique de ces derniers.

A côté des sucres, le lusitanicoside fournit par dédoublement un aglycone odorant, paraissant partiellement altéré au cours de l'hydrolyse acide, qu'on peut extraire par l'éther des liqueurs d'hydrolyse fermentaire.

Cet aglycone liquide, entraînable par la vapeur d'eau, présente les caractères d'un phénol ; il est soluble dans les solutions alcalines d'où le précipitent les acides sous forme de gouttelettes huileuses. Il est très peu soluble dans l'eau ; quoique très diluée, cette solution aqueuse donne une coloration bleue avec le perchlorure de fer. En solution sodique, il donne avec le chlorure de benzoyle un composé cristallisable en longues aiguilles prismatiques incolores.

DÉTERMINATION DE LA CONSTITUTION

DU LUSITANICOSIDE (1)

En vue de déterminer la constitution chimique du lusitanicoside, j'ai poursuivi l'étude de ses produits de dédoublement et, plus particulièrement, de ceux résultant de son hydrolyse par les acides.

Hydrolyse du lusitanicoside par l'acide sulfurique dilué.

On a maintenu pendant 3 heures au bain-marie bouillant la solution suivante :

Lusitanicoside, cristallisé trois fois, séché à l'air jusqu'à poids constant	14 g., 955
Acide sulfurique dilué à 1 g. p. 10 cm ³	125 cm ³
Eau distillée	Q. S. p 500 cm ³

Cette solution contenait ainsi à l'origine, pour 100 cm³, 2 g., 991 de lusitanicoside et 2 g., 50 d'acide sulfurique ; elle accusait, après chauffage, une rotation de + 1°26' (*l* = 2) et une teneur en sucre réducteur exprimé en glucose, de 2 g., 2490, ce qui conduit pour le produit réducteur à un pouvoir rotatoire global

$$[\alpha]_D = \frac{+ 1^{\circ}433 \times 100}{2 \times 2,490} = + 31^{\circ}8, \text{ en admettant que la liqueur}$$

ne contenait, en dehors du sucre réducteur, aucun autre produit actif sur la lumière polarisée (1).

La liqueur d'hydrolyse, fortement trouble, a été filtrée sur papier après complet refroidissement ; elle a laissé sur le filtre un résidu huileux qui sera étudié plus loin. Le filtrat a été neutralisé par le carbonate de calcium, puis distillé sous pression réduite. Les premières portions du distillat étaient troubles et, finalement, le distillat s'éclaircissait à nouveau complètement.

(1) H. HÉRISSEY, « Sur le lusitanicoside » ; *C. R. Ac. Sc.*, CXCVIII, 265, 1934 ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [8], XIX, 425, 1934 ; *Bull. Soc. Chim., biol.* XVI, 527, 1934 ;

(1) Je ferai remarquer que ce pouvoir rotatoire + 31°8 est très voisin de celui + 32°, 2, que doit donner un mélange équimoléculaire de glucose *d* ([α]_D = + 52°5 ; C₆H₁₂O₆ = 180,093) et de rhamnose ou isodulcitol ([α]_D = + 10°, 1 d'après C. TANNER ; C₆H₁₂O₅ = 164,093), mélange dans lequel les proportions de glucose et de rhamnose sont respectivement de 52,3 et de 47,6 p. 100 (C₆H₁₂O₆ + C₆H₁₂O₅ = 344,186).

Isolement et caractérisation du glucose d.

Le résidu de la distillation a été repris à reflux par 5 cm³, 5 d'eau à laquelle, après quelque temps de chauffage au bain-marie, on a ajouté 95 cm³ d'alcool à 95°, de façon à avoir finalement une liqueur titrant 89-90°. Il est resté un peu d'extrait non dissous. On a filtré après refroidissement et amorcé avec du glucose *d*. La liqueur a peu à peu donné, sur cette amorce, des cristaux dont la quantité, après une dizaine de jours, ne paraissait pas sensiblement augmenter. Les cristaux ont alors été essorés, lavés avec 10 cm³ d'alcool à 45°, puis séchés à l'air ; on en a recueilli 1 g., 99.

Ce produit, recristallisé dans l'alcool a été identifié au glucose *d* : son pouvoir rotatoire définitif, en solution aqueuse, a été trouvé :

$$[\alpha]_D = + 51^{\circ},4 \quad (v = 10 \text{ cm}^3, l = 2, p = 0 \text{ g., } 1976, \alpha = + 2^{\circ}2')$$

il possédait la mutarotation positive ($\alpha = + 2^{\circ}58'$, $l = 2$, après 9 minutes de dissolution).

On a déterminé son pouvoir réducteur d'après la méthode de BERTRAND : 0 g., 0790 de matière correspondaient à 0 g., 1451 de cuivre (chiffre déterminé expérimentalement pour le glucose par G. BERTRAND : 0 g., 1445). Enfin, notre sucre a fourni avec la phénylhydrazine une osazone fondant instantanément sur le bloc MAQUENNE à la même température (228°-230°) que de la glucosazone type et que son mélange avec cette dernière.

Isolement et caractérisation du rhamnose.

Avec la liqueur mère qui avait ainsi fourni du glucose, on a repris, par chauffage à reflux, la partie restée indissoute de l'extrait provenant de la liqueur d'hydrolyse. Comme la solution ainsi obtenue ne donnait pas de cristaux, même après un assez long temps, on l'a évaporée, au bain marie, en consistance de sirop clair qui a été amorcé avec du rhamnose. Il s'est alors formé sur cette amorce des cristaux relativement volumineux, qui ont été essorés à la trompe et lavés avec quelques gouttes d'eau ; on en a ainsi recueilli 4 g., 50. Ces cristaux ont été délayés dans une petite quantité d'eau, essorés à nouveau et séchés à l'air libre. Ils présentaient toutes les propriétés du rhamnose hydraté, $C_6H_{12}O_5 \cdot OH_2$.

Ils fondaient au tube capillaire à 90°. Le point de fusion instantané de l'osazone, préparée par réaction avec la phénylhydrazine, a été trouvé, au bloc MAQUENNE, situé aux environs de 190°, simultanément avec celui de la phénylrhamnosazone type et celui du mélange de notre osazone et de cette dernière.

Le pouvoir rotatoire, en solution aqueuse, d'abord lévogyre (mutarotation négative) a été trouvé finalement $[\alpha]_D = + 8^{\circ},78$ ($v = 10 \text{ cm}^3$; $l = 2$; $p = 0 \text{ g.}, 4932$; $\alpha = + 52'$).

Les liqueurs mères d'hydrolyse, qui avaient ainsi fourni successivement du glucose *d* et du rhamnose, ont été distillées; le résidu extractif a été dissous dans l'eau et soumis à la fermentation alcoolique par la levure haute des boulangers, de façon à le débarrasser du glucose. On a pu ainsi obtenir, par traitement convenable de la liqueur fermentée, de nouvelles quantités de rhamnose.

L'hydrolyse du lusitanicoside par l'acide sulfurique dilué a donc fourni du glucose *d* et du rhamnose; d'autres sucres (*oses*) que ceux-ci n'ont pu être caractérisés dans les produits de l'hydrolyse (1).

Isolement et caractérisation de l'aglycone.

Dans notre premier travail sur le lusitanicoside, nous avons indiqué que ce composé, à côté de sucres réducteurs, fournit, par hydrolyse, un aglycone liquide, entraînable par la vapeur d'eau, présentant des caractères de phénol (solubilité dans les liqueurs alcalines, coloration bleue avec le perchlorure de fer), donnant avec le chlorure de benzoyle, en solution sodique, un composé cristallisable en longues aiguilles prismatiques incolores.

Dérivé benzoylé de l'aglycone du lusitanicoside. — Ce dérivé benzoylé a été obtenu par diverses voies :

a) Ainsi le résidu huileux, mentionné précédemment, abandonné sur le filtre par la liqueur d'hydrolyse sulfurique a été dissous dans l'éther; la solution étherée, déshydratée par le sulfate de sodium anhydre et soumise à l'évaporation spontanée, a laissé un résidu liquide, limpide, brunâtre, du poids de 1 g., 86. Ce résidu

(1) En particulier, la recherche des pentoses par l'orcine, en milieu chlorhydrique, a donné des résultats négatifs.

a été traité par un mélange de 375 cm³ d'eau, 125 cm³ de solution de soude à 4 g. p. 100 cm³ et 2 cm³ de chlorure de benzoyle. Après agitation et quelques heures de contact, il s'est fait un précipité cristallisé légèrement jaunâtre, qui a été essoré, lavé à l'eau et séché à l'air ($p = 1$ g., 80).

b) Le distillat (400 à 500 cm³) de la liqueur d'hydrolyse filtrée a été de même additionnée de 100 cm³ d lessive de soude diluée et de 2 cm³ de chlorure de benzoyle. Il s'est fait un précipité cristallisé, blanc de neige, pesant, après lavage et dessiccation à l'air, 1 g., 51.

c) L'hydrolyse biochimique du lusitanicoside, effectuée avec la *poudre fermentaire*, permet d'obtenir l'aglycone par extraction à l'éther de la liqueur fermentaire ; la solution étherée, desséchée sur sulfate de sodium, abandonne, après évaporation spontanée, l'aglycone liquide qui, traité par la soude et le chlorure de benzoyle, fournit un dérivé incolore, parfaitement cristallisé.

d) J'ai pensé alors que ce dérivé benzoylé pourrait être avantageusement obtenu à partir du distillat de la plante elle-même, après broyage et contact d'un certain temps avec de l'eau, de façon à provoquer le dédoublement du lusitanicoside qu'elle contient, à la manière dont on obtient de l'acide cyanhydrique et de l'aldéhyde benzoïque, par hydrolyse du prulaurasoside de la feuille de Laurier-cerise.

L'expérience a confirmé cette prévision : ainsi, 500 g. de feuilles fraîches de Laurier de Portugal, récoltées en janvier, ont été broyées et mises à macérer avec 4 fois leur poids d'eau, soit 2.000 cm³. Après environ 8 heures de contact à la température ordinaire, on a distillé le mélange en maintenant constant le volume du liquide contenu dans le ballon distillatoire, par affusion d'eau s'écoulant goutte à goutte d'une ampoule à robinet. On a ainsi obtenu 2.000 cm³ de distillat auquel on a ajouté 30 cm³ de lessive des savonniers et 8 cm³ de chlorure de benzoyle ; on a recueilli, après lavage et dessiccation, 2 g. de produit benzoylé.

A des différences de rendement près, on obtient le même résultat positif, en opérant sur des feuilles récoltées à divers moments de l'année. De même, les feuilles sèches de Laurier de Portugal, conservées dans de bonnes conditions, n'ayant pas pris de teinte brune

au cours de la dessiccation, distillées après macération dans 10 à 15 fois leur poids d'eau, donnent un hydrolat permettant de préparer le même dérivé benzoylé.

Il est toujours nécessaire de distiller une assez grande quantité de liquide, l'aglycone du lusitanicoside n'étant que lentement entraîné par la vapeur d'eau ; il est d'ailleurs facile de suivre la marche de la distillation en utilisant le perchlorure de fer dilué qui provoque l'apparition d'une coloration bleue dans le distillat, tant qu'il passe de l'aglycone.

Le dérivé benzoylé peut être facilement purifié et être obtenu tout à fait pur par recristallisation dans l'alcool à 95° (20 cm³ pour 1 g.) ; les eaux-mères alcooliques, après séparation des cristaux, additionnées à chaud d'eau distillée jusqu'à commencement de trouble, laissent encore déposer, à un état très pur, la plus grande partie du produit resté en dissolution.

Je me suis assuré de l'identité des divers échantillons du dérivé benzoylé obtenus par les diverses voies qui viennent d'être décrites. Le composé est, dans tous les cas, rigoureusement le même ; tous les produits et les divers mélanges qu'on en peut faire entre eux fondent à 72°-73°.

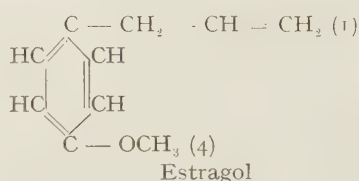
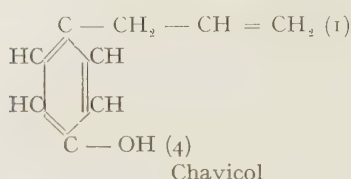
Dérivé méthylé de l'aglycone du lusitanicoside. — L'aglycone du lusitanicoside donne en milieu aqueux alcalin, en présence de sulfate de méthyle, un dérivé liquide, insoluble dans les alcalis, ce qui confirme la présence, dans l'aglycone, d'au moins une fonction phénol.

Comme pour le dérivé benzoylé, j'ai pu obtenir ce dérivé méthylé soit à partir de l'aglycone extrait des produits de l'hydrolyse acide ou fermentaire du lusitanicoside, soit à partir des distillats de macérés aqueux de feuille fraîche ou sèche de Laurier de Portugal. Le dérivé méthylé étant liquide ne peut, contrairement au dérivé benzoylé, être séparé par filtration du milieu liquide dans lequel il se forme ; il doit en être extrait par l'éther.

Les distillats peuvent fournir directement le méthyl-aglycone par traitement par la soude (1 g. OHNa pour 100 cm³) et le sulfate diméthylique (0 cm³, 5 pour 100 cm³) ; on peut aussi, — mais sans que cette façon de procéder présente quelque avantage, — extraire d'abord l'aglycone du distillat par l'éther et traiter ensuite l'aglycone ainsi isolé par le sulfate diméthylique, en milieu sodique.

Le dérivé méthylé de l'aglycone du lusitanicoside, quel que fût son mode d'obtention, présentait une odeur agréable, caractéristique, anisée, rappelant absolument celle de l'estragol (1) ; il restait liquide malgré un refroidissement prolongé, voisin de 0°.

Ces propriétés m'ont permis d'orienter dans un sens déterminé mes recherches d'identification de l'aglycone du lusitanicoside, en faisant l'hypothèse que ce dernier n'était peut-être autre que le chavicol ou p-oxyallylbenzène ou p-allylphénol, dont l'estragol est précisément l'éther méthylique :



S'il en était ainsi, l'oxydation suffisamment poussée du dérivé méthylé obtenu à partir de l'aglycone du lusitanicoside devait donner de l'acide anisique, $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{COOH (1)} \\ \text{OCH}_3 \text{ (4)} \end{cases}$. C'est ce que l'expérience a confirmé : 0 g., 83 de dérivé méthylé ont été versés goutte à goutte, en agitant, dans un mélange de 5 g. de bichromate de potassium pulvérisé, 5 cm³, 5 d'acide sulfurique et 20 cm³ d'eau, en refroidissant dans un bain d'eau. On a ensuite porté le mélange à 50° pendant environ 10 minutes, puis laissé refroidir. On a dilué avec 25 cm³ d'eau et essoré le produit solide qui s'était formé. Ce produit, lavé avec 20 cm³ d'eau froide, a été repris à l'ébullition par 50 cm³ d'eau, en présence d'une trace de noir animal ; on a filtré bouillant. Par refroidissement, il s'est déposé de fines aiguilles cristallines qui, recueillies et séchées à l'air, pesaient 0 g., 13. Le produit ainsi obtenu a été identifié avec l'acide anisique préparé par oxydation de l'anéthol ; il fondait à 184° comme ce dernier et comme son mélange avec lui.

A vrai dire, l'estragol, oxydé avec précaution par le permanganate de potassium en milieu acétique, donne l'acide homo-

(1) J'adresse mes bien sincères remerciements à M. le Professeur DÉLÉFINE, qui a mis à ma disposition quelques grammes d'« Estragol de Fenouil de France, éb. 213-215° », ce qui m'a permis d'utiles comparaisons.

anisique $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{CH}_2 - \text{COOH} \text{ (1)} \\ \text{OCH}_3 \text{ (4)} \end{cases}$, fondant à 85-86°, dont la formation est plus spécifique que celle de l'acide anisique, mieux adapté à la caractérisation de l'isomère propénylique, l'anéthol $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_3 \text{ (1)} \\ \text{OCH}_3 \text{ (4)} \end{cases}$.

Mais cette oxydation ménagée de l'estragol en acide homoanisique est assez délicate à effectuer quand on ne dispose que de petites quantités de matière première ; elle s'accompagne d'ailleurs toujours de la formation d'un peu d'acide anisique dont la séparation n'est pas très aisée dans les mêmes conditions. Aussi, m'en suis-je tenu à une oxydation poussée jusqu'au terme acide anisique.

L'objection pourrait alors être faite que l'aglycone du lusitanicoside ne serait pas le p-allylphénol (chavicol), mais le p-propénylphénol (dont l'éther méthylique est l'anéthol) ou même un phénol possédant en (1) une chaîne différente des chaînes allylique ou propénylique. Les observations suivantes vont apporter de nouveaux arguments en faveur de l'identification au chavicol de l'aglycone du lusitanicoside.

Tout d'abord, cet aglycone est bien un composé non saturé ; en effet, le dérivé benzoylé fixe du brome en solution chloroformique et plus de 98 p. 100 de son poids d'iode en solution alcoolique, en présence de sublimé.

D'autre part, on trouve actuellement dans le commerce pharmaceutique, sous le nom de *chavosote*, un produit susceptible d'être utilisé en thérapeutique dentaire et indiqué par le fabricant comme étant du « para-allylphénol chimiquement pur » ; ce produit serait obtenu par déméthylation de l'estragol (1). Or, j'ai préparé l'éther benzoïque du chavosote et ce composé s'est montré absolument identique à celui de l'aglycone du lusitanicoside (même point de fusion, mêmes caractères de solubilité, même composition élémentaire comme on le verra plus loin).

Le dérivé méthylé de notre aglycone, obtenu liquide et restant tel, même au voisinage de 0°, est donc bien l'estragol et non l'anéthol.

(1) V. GRIGNARD, « Sur le dédoublement des éthers-oxydes de phénols par les organo-magnésiens mixtes » ; *C. R. Ac. Sc.*, CLI, 322, 1910.

ANALYSE ÉLÉMENTAIRE DE L'AGLYCONE DU LUSITANICOSIDE. — L'aglycone nécessaire aux déterminations analytiques a été obtenu aussi pur que possible par saponification de son dérivé benzoylé par la soude aqueuse. Il semble difficile d'obtenir, dans l'analyse de ce corps, des chiffres donnant entièrement satisfaction. Cependant, j'ai toujours pris la précaution d'opérer sur un corps maintenu longtemps en contact avec du sulfate de sodium anhydre et chauffé ensuite quelque temps à l'étuve vers 105° ; il est sans doute très difficile de lui enlever les dernières traces d'eau qu'il renferme et, d'autre part, peut-être subit-il une légère oxydation au cours des diverses opérations qui conduisent à son obtention.

Voici les résultats obtenus dans trois des meilleures analyses (I) :

- I. 0 g., 1378 aglycone ont donné 0 g., 0984 OH₂ et 0 g., 4033 CO₂ soit p. 100 :
H = 7,93, C = 79,82.
II: 0 g., 1137 aglycone ont donné 0 g., 0844 OH₂ et 0 g., 3326 CO₂ soit p. 100 :
H = 8,24, C = 79,77.
III. 0 g., 1277 aglycone ont donné 0 g., 0930 OH₂ et 0 g., 3730 CO₂ soit p. 100 :
H = 8,09, C = 79,66.

Une analyse de chavosote, séché à 100°, faite à titre de comparaison, a conduit aux résultats suivants :

- 0 g., 1278 chavosote ont donné 0 g., 0970 OH₂ et 0 g., 3731 CO₂ soit p. 100 :
H = 8,43, C = 79,62.

Le tableau suivant permet la comparaison des chiffres obtenus :

	<i>Trouvé pour l'aglycone du lusitanicoside</i>			<i>Trouvé pour le chavosote</i>	<i>Calculé pour le chavicol C₉H₁₀O (134,078)</i>
	I	II	III	—	—
C p. 100....	79,82	79,77	79,66	79,62	80,55
H —	7,93	8,24	8,09	8,43	7,51

DÉTERMINATIONS ANALYTIQUES SUR LE DÉRIVÉ BENZOYLÉ DE L'AGLYCONE DU LUSITANICOSIDE. — a) *Analyse élémentaire.* — L'analyse faite sur le corps complètement séché à l'air donne des

(1) Toutes les analyses élémentaires rapportées dans ce travail ont été effectuées en tube ouvert, dans un courant d'oxygène. Je remercie mon assistant, M. POIROT, de l'aide qu'il m'a prêté au cours de leur exécution.

résultats en accord avec l'hypothèse qui nous fait considérer ce dérivé comme du benzoylchavicol :

I. 0 g., 1175 matière ont donné 0 g., 0643 OH₂ et 0 g., 3470 CO₂ soit p. 100 :

$$H = 6,08, C = 80,54.$$

II. 0 g., 1280 matière ont donné 0 g., 0746 OH₂ et 0 g., 3766 CO₂ soit p. 100 :

$$H = 6,47, C = 80,24.$$

Théorie pour le benzoylchavicol $C_6H_4 \begin{cases} \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH}_2 \text{ (I)} \\ \text{O.CO.C}_6\text{H}_5 \text{ (4)} \end{cases}$

$$= C_{16}H_{14}O_2 \text{ (238,109) :}$$

$$\text{p. 100 : } H = 5,92, C = 80,63.$$

Le benzoylchavosote a été analysé comparativement :

0 g., 1350 benzoylchavosote ont donné 0 g., 0783 OH₂ et 0 g., 3980 CO₂ soit

$$\text{p. 100 : } H = 6,44, C = 80,40.$$

b) *Saponification du benzoylaglycone*. — J'ai effectué cette saponification par la soude en milieu faiblement alcoolique. On traitait des prises d'essai déterminées du produit séché à l'air par la solution suivante, à l'ébullition à reflux, pendant 30 minutes :

Solution aqueuse de soude (13 à 14 g. OHNa par litre) 20 cm³

Alcool à 95° 60 cm³

On titrait ensuite à chaud par l'acide sulfurique normal au cinquième l'alcalinité restante, en même temps dans la liqueur de l'essai précédent et dans un même volume de solution alcaline hydroalcoolique témoin, non additionnée de benzoylaglycone. La différence observée entre les nombres de centimètres cubes d'acide sulfurique titré, nécessaires à la saturation de l'une ou de l'autre liqueur, permettait de calculer la quantité d'acide benzoïque mise en liberté par le dérivé benzoylé sous l'influence de l'alcali (1 cm³

$$SO_4H_2 \frac{N}{5} = 0 \text{ g., } 0244 \text{ acide benzoïque (poids moléculaire} = 122,046).$$

$$\text{Théoriquement le benzoylchavicol doit donner } \frac{122,046}{238,109} = 0,5125$$

de son poids d'acide benzoïque.

I. 0 g., 2080 benzoylaglycone ont donné 0 g., 1061 acide benzoïque (4 cm³, 35

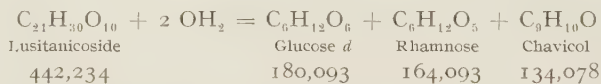
$$SO_4H_2 \frac{N}{5}). \text{ Calculé pour le benzoylchavicol : } 0,2080 \times 0,5125 = 0,1066.$$

- II. 0 g., 2745 benzoylaglycone ont donné 0 g., 1403 acide benzoïque (5 cm³,75 SO₄H₂ $\frac{N}{5}$). Calculé : 0,2745 $\times$ 0,5125 = 0,1406.
- III. 0 g., 2027 benzoylaglycone ont donné 0 g., 1037 acide benzoïque (4 cm³,25 SO₄H₂ $\frac{N}{5}$). Calculé : 0,2027 $\times$ 0,5125 = 0,1039.
- IV. 0 g., 2321 benzoylaglycone ont donné 0 g., 1207 acide benzoïque (4 cm³,95 SO₄H₂ $\frac{N}{5}$). Calculé : 0,2321 $\times$ 0,5125 = 0,1189 (1).

En somme, les résultats fournis par les diverses déterminations analytiques pratiquées sur le benzoylaglycone du lusitanicoside autorisent à assimiler ce dérivé au benzoylchavicol.

Constitution chimique du lusitanicoside.

Tous les faits précédemment exposés montrent que, par hydrolyse acide, le lusitanicoside fournit du glucose *d*, du rhamnose et du chavicol, de sorte que la formule la plus simple, susceptible de représenter ce dédoublement, peut s'écrire



Les données suivantes autorisent à penser que cette formule est bien adéquate à la réalité :

L'analyse élémentaire d'un échantillon de lusitanicoside recristallisé quatre fois dans l'éther acétique très légèrement hydraté (à 0 g., 20 d'eau pour 100 cm³), puis séché à l'étuve à 135° jusqu'à poids constant a conduit aux résultats suivants :

- I. 0 g., 2135 matière ont donné 0 g., 1347 OH₂ et 0 g. 4443 CO₂ soit p. 100 : H = 7,01, C = 56,75.
- II. 0 g., 1950 matière ont donné 0 g., 1218 OH₂ et 0 g., 4039 CO₂ soit p. 100 : H = 6,94, C = 56,48.
- III. 0 g., 1900 matière ont donné 0 g., 1214 OH₂ et 0 g., 3967 CO₂ soit p. 100 : H = 7,10, C = 56,94.
- Calculé pour C₂₁H₃₀O₁₀, p. 100 : C = 56,98, H = 6,83.

(1) Les indicateurs de virage étaient la phénolphthaléine pour les essais I et II, le tournesol d'orcine pour III et IV.

La cryoscopie du lusitanicoside a été faite dans l'eau sur un produit qui avait été maintenu une heure à l'étuve à 100° et avait perdu de ce fait 1,11 pour 100 (1), elle a donné :

$$M = 18,5 \times \frac{4,1550}{0,168} = 457$$

Calculé pour $C_{21}H_{30}O_{10}$: 442,234.

D'après cette dernière formule, la molécule du lusitanicoside doit, par hydrolyse totale, donner une molécule de glucose *d* (180,093) et une molécule de rhamnose (164,093), soit pour 100,

$$\frac{(180,093 \times 164,093) \times 100}{442,234} = \frac{344,186 \times 100}{442,234} = 77,8$$

d'un tel mélange équimoléculaire. Or le dosage du mélange de sucres produits au cours de l'hydrolyse, dans deux opérations différentes, a conduit à des valeurs, exprimées en glucose, de 74,4 et 75,1 p. 100. Ces chiffres apparaissent comme très satisfaisants si l'on veut bien se rappeler que le rhamnose réduit les liqueurs cupro-alkalines avec un peu moins d'énergie que le glucose ordinaire.

La liaison de l'aglycone (chavicol) du lusitanicoside avec la partie sucrée de la molécule se fait indiscutablement par la fonction phénol, puisque l'hétéroside ne se colore pas par le perchlorure de fer.

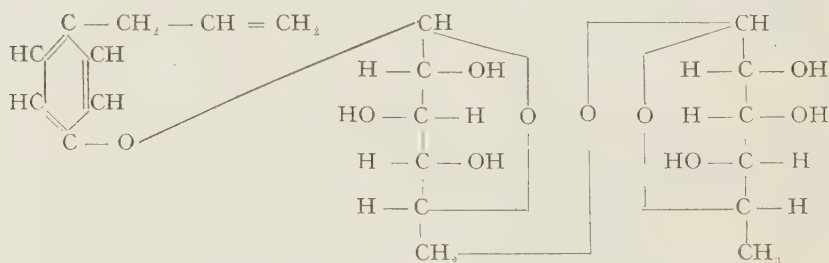
Il restait à déterminer, après les recherches qui viennent d'être rapportées, quel était le sucre, rhamnose ou glucose, qui participe à la liaison de l'aglycone (chavicol) avec la portion glucidique du lusitanicoside. J'avais admis, d'après les résultats fournis par l'hydrolyse diastasique, que les deux oses, rhamnose et glucose,

(1) J'ai indiqué précédemment que le lusitanicoside, *séché complètement à l'air*, ne perdait sensiblement pas de poids à 100°. Il semble bien toutefois que cet hétéroside cristallise avec de l'eau ; en effet, dans l'éther acétique absolument anhydre, il se dépose sous forme de gelée amorphe. Les cristaux, formés dans l'éther acétique légèrement hydraté, sont très brillants au moment de leur essorage ; ils perdent peu à peu de leur éclat par dessiccation à l'air, vraisemblablement par suite d'un phénomène d'efflorescence. On conçoit ainsi que, pour un temps d'exposition à l'air insuffisant, le produit contienne encore un peu d'eau dont la quantité sera précisément variable suivant la durée de cette dessiccation spontanée. On remarquera que j'ai pris la précaution de chauffer préalablement jusqu'à 135° l'échantillon qui a été utilisé pour l'analyse élémentaire : il avait ainsi perdu 0,576 p. 100. La formule $C_{21}H_{30}O_{10} + OH_2$ exigerait une perte de 3,91 pour 100.

devaient être unis pour former un diholoside et j'avais fait remarquer qu'un holoside hydrolysable en glucose et rhamnose, le rutinose, avait été isolé, à l'état amorphe, par hydrolyse biochimique du rutoside (rutine) par Ch. CHARAUX (1). Il y avait donc lieu de comparer le rutinose et l'holoside du lusitanicoside pour décider de leur identification.

Dans ce but, je comptais préparer du rutinose, à partir du rutoside, suivant la technique de CHARAUX, lorsque la réponse à la question posée a été donnée par G. ZEMPLÉN et A. GERECS (1) qui ont préparé le lusitanicoside par synthèse en copulant le chavicol avec l'acétobromorutinosé et saponifiant ensuite la combinaison obtenue par le méthylate de sodium à froid.

Le lusitanicoside possède donc la formule suivante, en accord avec cette synthèse et tous les résultats que j'avais obtenus par voie analytique et qui ont été exposés dans les pages précédentes :



D'ailleurs, déjà dans un travail publié en 1935 (1), les auteurs concluaient, de leurs essais faits sur le lusitanicoside, que « les mesures d'absorption confirment la constitution qui lui a été attribuée par M. HÉRISSEY ».

(1) Ch. CHARAUX, « Sur le dédoublement biochimique de la rutine ». — « Rutinosé, nouveau biose provenant de ce dédoublement » ; *Bull. Soc. Chim. biol.*, VI, 631, 1924.

(1) GÉZA ZEMPLÉN und ARPÁD GERECS, « Synthese des Lusitanicosids (Chavicol- β rutinosids), des Glykosids aus *Cerasus lusitanica* LOIS. » ; *Ber. chem. Ges.*, **70**, 1098-1101, 1937.

(1) M^{me} RAMART-LUCAS et M. J. RABATÉ, « Structure des hétérosides d'après leur absorption dans l'ultra-violet » ; *Bull. Soc. Chim.*, [5], **2**, 1624, 1935.

CHAPITRE II

ACTION DE L'ÉMULSINE D'AMANDE SUR LE LUSITANICOSIDE

On a vu précédemment, dès le début de ce travail, que l'action de l'émulsine d'amande sur la liqueur extractive de Laurier de Portugal, — qui se traduit par le retour vers la droite de la rotation polarimétrique de la liqueur primitive, — s'est poursuivie avec lenteur pendant un très long temps, la valeur de ce retour s'exprimant toutefois par un chiffre élevé. Ce résultat qui allait nous engager à poursuivre avec succès l'étude biochimique des principes hétérosidiques du Laurier de Portugal et nous a conduit, en fait, à l'extraction du lusitanicoside, nous a amené, d'autre part, à essayer directement l'action de l'émulsine sur ce dernier hétéroside obtenu à l'état pur.

Au cours d'essais de dédoublement du lusitanicoside par les ferments, en vue de nous orienter sur sa constitution, nous avons vu, en effet, comme nous l'avons précédemment mentionné, que le ferment qui nous apparaissait le plus approprié pour cette hydrolyse était non pas l'émulsine, mais la poudre fermentaire obtenue avec la feuille de *C. lusitanica*. Il y avait donc lieu de se demander si le ferment spécifique du dédoublement est bien l'émulsine d'amande elle-même, envisagée comme *d*-glucosidase β .

Pour éclaircir cette question, un certain nombre d'essais ont été institués :

I. — On a préparé une solution, — ou mieux une suspension, — d'émulsine d'amande, en agitant pendant environ une heure 1 g. de poudre de cette dernière avec 100 cm³ d'eau distillée et décantant, sans filtrer, pour éliminer

seulement quelques parties grossières non dissoutes. On a mélangé 50 cm³ de cette suspension ($\alpha = -40'$, $l = 2$, après filtration) avec 150 cm³ d'une solution aqueuse toluénée de lusitanicoside à 1 g., 9981 pour 100 cm³ ($\alpha = -2^{\circ}56'$, $l = 2$). Le mélange ne réduisait pas la liqueur cupro-potassique et accusait une rotation de $-2^{\circ}22'$ ($l = 2$). Après 66 jours, à la température du laboratoire, on a observé une rotation de $-2^{\circ}6'$; il n'y avait donc eu qu'un retour de 18' vers la droite et la liqueur n'était devenue que faiblement réductrice.

Cependant, l'émulsine utilisée, essayée sur des solutions d'aucuboside et d'amygdaloside, s'était montrée très active sur ces hétérosides ; ainsi, dans les conditions de l'essai ci-dessus, on obtenait, en 2 jours, un dédoublement de 88 pour 100 de l'amygdaloside mis en œuvre.

A titre d'essai comparatif, on avait mis à part 50 cm³ du mélange initial ($\alpha = -2^{\circ}22'$, $l = 2$), auxquels on avait ajouté 1 gramme de poudre fermentaire de Laurier de Portugal et on avait constaté, après 4 jours, une formation de sucre réducteur correspondant à 35,1 p. 100 de l'hétéroside mis en œuvre et, après 18 jours, à 40,1 p. 100. On a vu, dans les essais antérieurement rapportés (pp. 11 et 12), qu'on avait obtenu, par la poudre fermentaire seule, des valeurs oscillant de 39 à 40 p. 100.

II. — On a broyé, dans un mortier de verre, 0 g., 5059 de lusitanicoside avec 0 g., 50 d'émulsine d'amande et quantité suffisante d'eau pour faire 25 cm³. — Après défécation, le mélange présentait une rotation de $-3^{\circ}7'$ ($l = 2$), ramenée par le calcul au volume primitif. Après 7 jours, à la température du laboratoire la rotation était devenue $-2^{\circ}51'$; elle était de $-2^{\circ}40'$ après 35 jours.

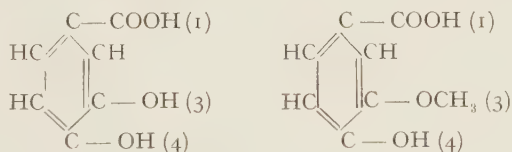
Ces essais montrent que l'émulsine des amandes n'a qu'une très faible action hydrolysante sur le lusitanicoside, alors que la poudre fermentaire de la plante agit rapidement ; on constate qu'on observe l'inverse lorsque, au lieu de lusitanicoside, on met en œuvre l'amygdaloside comme substance à hydrolyser.

Il semble donc bien que le lusitanicoside exige, pour son hydrolyse, un ferment spécifique approprié et que la faible action observée avec l'émulsine résulte de la présence, dans cette dernière, de traces de ce dernier ferment. On pourrait peut-être désigner celui-ci sous le nom de *lusitanicosidase*, étant bien entendu qu'il est susceptible sans doute de s'attaquer non seulement au lusitanicoside, mais aussi à des composés présentant une structure se rapprochant de celle de cet hétéroside.

CHAPITRE III

PRÉSENCE DANS LE LAURIER DE PORTUGAL DE PRINCIPES IMMÉDIATS FOURNISSANT DE L'ACIDE VANILLIQUE ET DE L'ACIDE PROTOCATÉCHIQUE (1)

En collaboration avec MM. G. POIROT et J. RABATÉ (1), j'ai montré l'existence, dans les rameaux feuillus de Laurier de Portugal, de principes immédiats dans lesquels se trouvent engagés les *acides protocatéchique* et *vanillique* :



Je rappellerai seulement, d'une façon très sommaire, la technique qui a conduit à ce résultat :

Les rameaux feuillus de Laurier de Portugal (2) étaient traités par l'eau ou l'alcool bouillants. La solution aqueuse de l'extrait résultant de ce traitement était additionnée d'acétate neutre de plomb, puis filtrée. A la liqueur limpide, on ajoutait du sous-acétate de plomb liquide. Le précipité produit par ce dernier réactif était seul recueilli, puis décomposé par l'acide sulfurique ou par l'hydrogène sulfuré. La liqueur finalement obtenue, fournissait,

(1) H. HÉRISSEY, G. POIROT et J. RABATÉ, « Présence dans les rameaux feuillus de Laurier de Portugal, *Cerasus lusitanica* LOIS., d'un complexe fournissant de l'acide vanillique et de l'acide protocatéchique » ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [8], XXIX, 337, 1939.

(2) Des recherches séparées ont été faites sur des rameaux récoltés à diverses époques de l'année ; elles ont toutes conduit au même résultat global.

après divers traitements appropriés, de l'acide protocatéchique et de l'acide vanillique.

Si l'acide protocatéchique et certains de ses dérivés ont été souvent rencontrés dans le règne végétal, il en est tout autrement de l'acide vanillique ; les cas dans lesquels on a signalé ce dernier sont, en effet, assez rares.

Il semble bien que les acides protocatéchique et vanillique ne préexistent pas, au moins en totalité, à l'état libre, dans le Laurier de Portugal, mais proviennent d'un ou de plusieurs complexes, susceptibles de libérer leurs composants sous l'influence des traitements qu'on fait subir au végétal et aux liqueurs extractives qui en dérivent. Les essais ci-dessous décrits appuient cette manière de voir.

On a traité, par l'alcool bouillant à 80°, 3.500 g. de rameaux feuillus frais récoltés en février 1938. Après distillation de l'alcool, la liqueur aqueuse résiduelle ne cède à l'éther que des traces infimes d'acide vanillique. Cette liqueur aqueuse, soumise à la fermentation alcoolique par la levure de bière, est traitée par l'acétate neutre de plomb ; le précipité plombique peu abondant qui se produit dans ces conditions ne renferme pas de méthoxyles.

La liqueur aqueuse, filtrée, est ensuite additionnée de son volume d'alcool à 95° et d'extrait de Saturne qui y détermine la formation d'un volumineux précipité ; on constate qu'après ce traitement elle ne contient plus que des traces indosables de produits fournissant des méthoxyles, en même temps qu'elle ne donne qu'une très faible réaction colorée protocatéchique.

Les complexes à acides protocatéchique et vanillique sont entraînés de même si, comme agent précipitant, on utilise la baryte au lieu d'extrait de Saturne.

Les précipités plombiques produits par ce dernier agent sont décomposés par l'hydrogène sulfuré ; la liqueur aqueuse, siège de cette décomposition, est évaporée dans le vide ; le résidu d'évaporation est repris par l'acétone et les liqueurs acétoniques sont évaporées. Si, dans ces extraits acétoniques, on dose les méthoxyles, on est amené à considérer, — en rapportant en totalité le chiffre trouvé à de l'acide vanillique, — que les rameaux feuillus de Laurier de Portugal doivent contenir sensiblement, pour 1.000 g. de produit sec, 5 g. de ce dernier.

Les extraits ainsi obtenus par décomposition du précipité plombique, purifiés par passage dans l'acétone, libèrent de l'acide vanilique par simple ébullition avec de l'eau et, mieux encore, par hydrolyse sulfurique, qui fournit également de l'acide protocatéchique paraissant plus difficilement libérable. Il est donc assez naturel d'admettre que les acides trouvés à l'état libre dans des liqueurs provenant de traitements de la plante par décoction dans l'eau résultent de leur mise en liberté dans un milieu favorable à cette dernière.

Au cours de plusieurs essais d'hydrolyse par les acides, nous avons constaté dans les liqueurs la présence de sucres réducteurs et nous avons même isolé du glucose et du rhamnose. Ces résultats peuvent amener à concevoir que les acides protocatéchique et vanilique seraient peut-être engagés dans une ou plusieurs combinaisons de nature hétérosidique. L'impossibilité d'attribuer tout caractère de composé défini et bien individualisé à un précipité aussi complexe que celui que produit le sous-acétate de plomb liquide dans une solution extractive végétale nous empêche d'insister sur cette hypothèse qu'il n'est cependant pas déraisonnable d'émettre.

CHAPITRE IV

LES PRINCIPES CYANOGENÉTIQUES DANS LE LAURIER DE PORTUGAL

On connaît la fréquence remarquable des hétérosides cyanhydriques dans de nombreuses espèces de la famille des Rosacées. Aussi m'a-t-il paru indiqué d'étudier, au point de vue de la cyanogénèse, divers organes du Laurier de Portugal.

FEUILLE. — La recherche, dans les organes végétatifs, de composés susceptibles de fournir de l'acide cyanhydrique donne des résultats assez variables, quelquefois positifs, mais le plus souvent négatifs.

Un résultat positif a été obtenu avec des feuilles très jeunes, cueillies à l'extrémité des tiges le 6 juin 1933 :

25 g. de feuilles très jeunes ont été, le jour même de leur récolte, pilées au mortier et mises à macérer dans 250 cm³ d'eau. Après 24 heures de contact à la température ordinaire, on a soumis le mélange à la distillation. Les dix premiers centimètres cubes de distillat recueilli donnaient, par formation de bleu de Prusse, une réaction caractéristique, assez intense, de la présence d'acide cyanhydrique ; les dix centimètres cubes recueillis ensuite ne donnaient plus de réaction sensible.

Par contre, des résultats négatifs ont été obtenus avec des feuilles fraîches récoltées le 30 mars 1931, le 1^{er} mars 1940, le 4 juin 1941, ainsi qu'avec des bourgeons axillaires cueillis les uns le 22 avril 1940 et les autres le 14 mai 1940. J'avais pris soin, dans toutes ces recherches, de faire un double contrôle consistant, d'une part, en une deuxième distillation du produit de la macération, effectuée après action de l'émulsine d'amande et, d'autre part, en une troisième

distillation témoin, qui devait donner un résultat positif, après introduction dans le macéré de 2 à 3 g. de feuille fraîche de Laurier-cerise, incisée. Ainsi étaient prises, dans la mesure du possible, les précautions opératoires qui devaient conduire à déceler un hétéroside cyanhydrique éventuellement présent dans l'objet examiné.

Les essais qui précèdent montrent que la présence d'un hétéroside cyanhydrique dans la feuille de Laurier de Portugal est un phénomène contingent, susceptible de se manifester ou de disparaître suivant la saison ou l'état de développement de la feuille ; les conditions précises de son apparition pourraient certainement donner lieu à un travail intéressant.

INFLORESCENCE. — L'inflorescence non encore épanouie s'est montrée assez riche en hétéroside cyanhydrique.

I. — 290 g. d'inflorescences fraîches, *encore en bouton*, récoltées le 22 mai 1933 ont été mises à macérer, après broyage, dans 4 parties d'eau, soit 1.160 cm³, pendant 4 jours. On a recueilli, par distillation sur 1 cm³ de lessive de soude additionnée de 10 cm³ d'eau, un volume total de 275 cm³ de liquide dans lequel on a dosé l'acide cyanhydrique par la méthode indiquée à la Pharmacopée française. Pour 100 cm³ de distillat, il a fallu 6 cm³, 34 de solution normale décime d'azotate d'argent ce qui correspond à

$$0,0054 \times 6,34 = 0 \text{ g.}, 0342 \text{ d'acide cyanhydrique}$$

$$\text{soit } \frac{0,0342 \times 275}{100} = 0 \text{ g.}, 0940 \text{ pour 290 g. d'inflorescence fraîche et}$$

$$\frac{0,0940 \times 1.000}{290} = 0 \text{ g.}, 324 \text{ pour 1.000 g. de cette dernière.}$$

II. — Des inflorescences récoltées le 30 juillet 1941, alors que les fleurs étaient à peu près complètement fanées, ont fourni un distillat qui donnait encore une réaction nette mais extrêmement affaiblie d'acide cyanhydrique.

J'ai tenté d'extraire le principe générateur d'acide cyanhydrique, ainsi révélé dans les inflorescences de Laurier de Portugal ; j'ai opéré sur 188 g. d'inflorescences fraîches, encore en bouton, récoltées le 3 juin 1941. Si je n'ai pas atteint le but proposé, les essais faits dans cette direction m'ont au moins permis d'apporter quelques clartés sur la nature chimique de ce principe. J'ai reconnu, en effet, qu'il était soluble dans l'éther saturé d'eau qui l'enlève à l'extraît alcoolique obtenu par traitement des inflorescences par l'alcool bouillant. Le produit brut, ainsi dissous par l'éther humide, traité par l'acide chlorhydrique, fournit, après purification, un

composé cristallisé déviant à *gauche* la lumière polarisée et se comportant sur le bloc MAQUENNE, comme de l'*acide phénylglycolique*, $C_6H_5 - CH \begin{smallmatrix} \text{OH} \\ \text{CO}_2H \end{smallmatrix}$, préparé à partir de l'amygdalosite. Ce dernier hétéroside ne passe pas dans l'éther saturé d'eau ; les observations précédentes nous autorisent donc à considérer le principe cyanogénétique des inflorescences de Laurier de Portugal comme étant vraisemblablement l'*amygdonitrileglucoside*, $C_{11}H_{17}O_6$, hétéroside obtenu artificiellement par Em. FISCHER (1), en faisant agir les ferments de la levure sur l'amygdalosite. Cet hétéroside dont j'ai signalé, pour la première fois, la présence dans le règne végétal (2), a été retrouvé par plusieurs auteurs chez de nombreuses plantes de la famille des Rosacées.

GRAINE. — Les semences sur lesquelles ont porté les essais provenaient de fruits récoltés au début d'octobre 1940. Douze cent quatre-vingts (1.280) grammes de fruits frais nous ont fourni 77 g., 30 de semences séchées à l'air jusqu'à poids constant, soit $\frac{77,3 \times 100}{1.280} = 6,03$ pour 100 (3).

I. — 10 g. de graines sèches triturerées avec du sable ont été mis à macérer dans 200 cm³ d'eau distillée, à la température du laboratoire. Après 40 heures, on a distillé et recueilli 75 à 80 cm³ de distillat, dans lequel le dosage d'acide cyanhydrique a nécessité 6 cm³, 25 de solution d'azotate d'argent normale dérimé, ce qui correspond à $0,0054 \times 6,25 = 0$ g., 0337 d'acide cyanhydrique, soit 0 g., 337 pour 100 g. de graines.

II. — 4 g., 95 de graines sèches très finement pulvérisées au mortier ont été mis en contact avec 200 cm³ d'eau distillée. On a distillé 100 cm³ après 23 heures. Le dosage a révélé dans le distillat la présence de 0 g., 0173 d'acide cyanhydrique soit pour 100 g. de graines $\frac{0,0173 \times 100}{4,95} = 0$ g., 349.

Extraction d'amygdalosite de la graine de Laurier de Portugal.

— Les résultats des dosages qui viennent d'être rapportés correspondraient à une teneur en amygdalosite cristallisé de 6,40 à 6,60

(1) Em. FISCHER, « Ueber ein neues dem Amygdalin ähnliches Glucosid » ; *Ber. chem. Ges.*, XXVIII, 1508, 1895.

(2) H. HÉRISSEY, « Présence de l'amygdonitrileglucoside dans le *Cerasus Padus* DELARB. » ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], XXVI, 194, 1907.

(3) Le poids moyen d'une semence ainsi séchée à l'air est de 0 g., 0412.

pour 100 (1) de graine sèche en admettant, par analogie avec les semences d'autres Rosacées-Prunées, qu'il s'agit bien de ce dernier hétéroside. L'obtention d'amygdaloside, à partir du Laurier de Portugal, n'ayant, à ma connaissance, jamais été signalée, il y avait lieu de vérifier si l'amygdaloside constituait bien l'hétéroside cyano-génétique contenu dans les semences.

La recherche a été tentée sur des graines qui avaient été préalablement traitées par l'éther en vue de l'extraction de l'huile (voir page 35). On a utilisé 38 g., 50 de poudre de graine ainsi épuisée par l'éther et séchée à 35°. Cette poudre a été traitée au réfrigérant à reflux, à deux reprises, avec chaque fois 200 cm³ d'alcool à 80° ; les liqueurs alcooliques, filtrées après refroidissement, ont été réunies et distillées ; on a obtenu un extrait jaune-clair qui a été dissous dans 50 cm³ d'eau ; la solution aqueuse, opalescente, a été agitée avec de l'éther qui l'a clarifiée ; elle a été évaporée à sec sous pression réduite et le résidu a été repris par 50 cm³ d'alcool à 95-96°. La liqueur alcoolique, filtrée après quelques heures de refroidissement et amorcée avec de l'amygdaloside, a fourni des cristaux dont le poids, après essorage et dessiccation à l'air, était de 1 g., 72.

Ces cristaux ont été identifiés à l'amygdaloside. Ils possédaient, en effet, un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D = -38^{\circ},3$ ($v = 15$ cm³, $l = 2$, $p = 0$ g., 2935, $\alpha = -1^{\circ}30'$). D'autre part, 0 g., 1956 de produit, dissous dans 20 cm³ d'eau, en présence de 0 g., 20 d'émulsine d'amande, ont fourni, après 20 heures de contact à la température ordinaire, par distillation de la liqueur diluée à 170 cm³ avec de l'eau, 75 cm³ de distillat, dans lequel le dosage de l'acide cyanhydrique a accusé la présence de 0 g., 0094 de ce composé. Or, 0 g., 1956 d'amygdaloside cristallisé avec 2 molécules d'eau (C₂₀H₂₇NO₁₁, 2 OH₂ = 493) (2) doivent théoriquement donner un poids d'acide cyanhydrique égal à $\frac{0,1956 \times 27}{493} = 0$ g., 0107. La

(1) En effet, 100 grammes d'amygdaloside cristallisé dans l'eau (C₂₀H₂₇NO₁₁, 3 OH₂ = 511,265) sont susceptibles de fournir par hydrolyse 27 g., 016 d'acide cyanhydrique. On obtient donc le poids d'amygdaloside, correspondant à un poids donné en acide cyanhydrique, en multipliant ce dernier poids par le rapport $\frac{511,265}{27,016} = 18,92$.

(2) L'amygdaloside cristallisé dans l'alcool contient 2 molécules d'eau, tandis que dans l'eau il en fixe 3 molécules.

concordance est très bonne, étant donné surtout la multiplicité des opérations (hydrolyse, distillation, etc.) qui conduisent au dosage.

L'hétéroside cyanhydrique de la semence de Laurier de Portugal est donc l'*amygdalosite*.

D'autre part, de l'extrait aqueux résiduel qui, traité par l'alcool, nous avait fourni l'amygdalosite et des eaux-mères alcooliques de cristallisation de ce dernier nous avons obtenu 0 g., 24 d'un produit cristallisé qui a été identifié comme *saccharose*, par son pouvoir rotatoire de $[\alpha]_D = + 65^{\circ},6$ ($v = 10 \text{ cm}^3$, $l = 2$, $p = 0,1321$, $\alpha = + 1^{\circ}44'$), son inactivité sur les liqueurs cupro-alkalines et sa propriété d'être hydrolysé par l'invertine de la levure de bière.

CHAPITRE V

L'HUILE DE SEMENCE DE LAURIER DE PORTUGAL (1)

L'extraction de cette huile a été opérée sur des graines séchées à l'air, du poids moyen de 0 g., 0412 chacune, provenant, comme nous l'avons indiqué dans le chapitre précédent, de fruits récoltés en octobre 1940.

62 g., 30 de ces graines ont été traitées, dans un appareil de KUMAGAWA, par 200 cm³ d'éther lavé à l'eau, puis séché sur du sulfate de sodium anhydre. On a d'abord lixivié les graines entières, puis, après quelques passages d'éther, on les a sorties de l'appareil, séchées à 35°, passées au moulin pour les réduire en poudre demi-fine et, de nouveau, soumises à la lixiviation, par le même éther, dans l'appareil de KUMAGAWA. La liqueur éthérée, contenant l'huile, a été évaporée jusqu'à poids constant, au bain-marie, à une douce température. On a obtenu ainsi 17 g. d'huile, soit un rendement de 27,2 pour 100 de semence sèche.

Cette huile présente les caractères suivants :

La couleur est jaune ambré ; l'odeur et la saveur sont sensiblement nulles.

La *densité* a été déterminée d'abord, à la température de 13°, par la méthode du flacon ; les résultats obtenus, ramenés par le calcul à la température de 15°, ont donné le chiffre de 0,9388, moyenne de

(1) H. HÉRISSEY et G. POIROT, « Sur l'huile de semence de Laurier de Portugal » ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [9], II, 97, 1942.

deux déterminations qui avaient conduit aux valeurs de 0,9393 et 0,9383.

Les chiffres trouvés sont plus élevés que ceux indiqués généralement pour des huiles de semences de Rosacées, telles que celles d'amande, de noyaux d'abricot, de prune, de cerise, de laurier-cerise, etc., toutes huiles dont les densités sont comprises entre 0,918 et 0,924. D'autre part, à cause de la viscosité de l'huile, nous avons dû utiliser, dans nos essais, non pas un flacon à densité ordinaire, mais une fiole jaugée à 10 cm³ à col plus large, ce qui pouvait entraîner une légère incertitude dans la détermination de la hauteur du ménisque, malgré les précautions prises au remplissage pour éviter toute erreur due à un mouillage intempestif du col du ballon au-dessus du trait de jauge. Aussi, avons-nous cru bon de vérifier les valeurs trouvées, en déterminant la densité de notre huile par immersion de gouttes dans des alcools de titre variable, mais bien déterminé ; nous avons ainsi constaté, à 15°, que les gouttes restaient en suspension dans un alcool de titre 48°,2, ce qui correspond, pour un tel alcool, à une densité de 0,9378, qui est précisément la valeur indiquée ci-dessus, à une unité près de la 3^e décimale.

L'*indice de réfraction* de l'huile de Laurier de Portugal, déterminé par le réfractomètre de FÉRY, en lumière du sodium, a été trouvé égal à 1,4829, à 23°.

Par refroidissement dans un mélange de sel et de glace pilée, l'huile commence à se troubler vers — 9°,5 et se prend en une masse butyreuse vers — 12°.

L'*indice d'acide* a été trouvé égal à 5,97, ce qui correspond à une acidité de 3 pour 100, exprimée en acide oléique.

L'*indice de saponification* a été trouvé égal à 200,14.

La détermination de l'*indice d'iode* par la méthode au bromure d'iode, nous a conduit à la valeur de 115.

Le taux de l'insaponifiable se place aux environs de 1 pour 100 ; cette insaponifiable ne donne pas la réaction de SALKOWSKI, mais bien celle de LIEBERMANN (*phytostérol*).

L'huile de Laurier de Portugal est une huile lentement *siccative* ; 1 g., 0,061 d'huile ont été étalés dans un petit cristallisoir de 6 centimètres de diamètre et abandonnés au contact de l'air, à la température ordinaire, à l'abri de toute poussière ; la surface était fréquemment renouvelée, au moyen d'un petit agitateur taré avec le

cristalliseur. L'augmentation de poids a été suivie périodiquement et a atteint son maximum vers le 30^e jour ; elle était de 0 g., 0692, ce qui correspond à une fixation d'oxygène de 6,87 pour 100 d'huile. A ce moment, celle-ci s'était transformée en un vernis solide, à peine coloré en jaune pâle.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES PHYSIOLOGIQUES SUR LE LUSITANICOSIDE (1)

CHAPITRE PREMIER

TOXICITÉ, ÉLIMINATION.

ABSENCE D'ACTION SUR L'HÉMOLYSE ET LE TEMPS DE COAGULATION DU SANG

1. *Toxicité. Essais sur la Grenouille et sur la Souris blanche*

A. — ESSAIS SUR LA GRENOUILLE (*Rana esculenta*). — On a administré à quatre grenouilles du lusitanicoside en solution aqueuse à 10 g. pour 100 cm³, par injection sous-cutanée à travers le plancher buccal.

La grenouille n° 1	reçoit 0 g., 10	de lusitanicoside à 11 h. 35
» n° 2	0 g., 10	» 11 h. 40
» n° 3	0 g., 20	» 11 h. 45
» n° 4	0 g., 05	» 11 h. 50

A 12 h. 15, les grenouilles présentent une motricité diminuée, elles sautent difficilement, sauf la grenouille n° 4. La n° 3 paraît être la plus touchée ; mise sur le dos, elle est incapable de se retourner. A 14 h. on observe les mêmes symptômes, la n° 3 est très mal et présente de la paralysie flasque. A 18 h., la n° 3 est morte et les autres n'ont pas encore retrouvé toute leur vivacité.

Le lendemain, à 9 h. 30, les trois survivantes paraissent redevenues normales ; elles n'ont présenté aucun trouble dans les jours qui ont suivi.

(1) Les recherches exposées dans cette II^e partie n'ont pu être poursuivies qu'avec le concours de M. J. CHEYMOL, Pharmacien des Hôpitaux de Paris, Assis- tant à la Faculté de Médecine, sous la direction de M. le Professeur R. HAZARD.

M. CHEYMOL, qui fut pendant plusieurs années mon élève et mon collaborateur dans des recherches d'un autre ordre, m'a donné, dans l'aide qu'il m'a présentement apportée, une preuve délicate de reconnaissance à laquelle je suis très sensible ; je lui exprime, ainsi qu'à M. le Professeur HAZARD, ma sincère gratitude.

B. — ESSAIS SUR LA SOURIS BLANCHE. — Les essais ont porté sur trente-sept souris blanches d'un poids de douze à vingt-six grammes provenant d'un élevage sélectionné. Les solutions de lusitanicoside, rendues isotoniques au sérum sanguin par addition de chlorure de sodium, furent injectées dans une veine de la queue. Les résultats sont réunis dans le tableau suivant :

Souris		Lusitanicoside injecté en mg.	Durée de l'inject. minutes	Résultats V = vivante M = morte	Poids du lusitanicoside	
N ^o	Poids g.				rapporté à une souris de 20 g. en mg.	rapporté au kg. animal en g.

Sol. au 1/40 (1 cm³ = 0 g., 025 de lusitanicoside)

1	14	6,2	2	V	8,9	0,44
2	15	12,5	2	M	16,6	0,83
3	14	12,5	2	V	17,8	0,89
4	26	25	2	V	19,2	0,96
5	25	25	2	V	20	1
6	12	12,5	2	V	20,8	1,04
7	12	12,5	2	M	20,8	1,04
8	22	25	2	V	22,7	1,13
9	20	25	2	V	25	1,25
10	14	17,5	2	V	25	1,25
11	14	25	2	V	35,7	1,78

Sol. au 1/20 (1 cm³ = 0 g., 05 de lusitanicoside)

12	13	12,5	2	V	19,2	0,96
13	25	25	2	V	20	1
14	23	25	2	V	21,7	1,08
15	22	25	2	V	22,7	1,13
16	17	20	2,15"	V	23,5	1,17
17	20	25	2	V	25	1,25
18	20	25	2	M	25	1,25
19	20	25	2	V	25	1,25
20	22	35	2	M	31,8	1,59
21	22	35	2	V	31,8	1,59
22	23	38	2	V	33	1,65
23	15	25	2	M	33,3	1,66
24	12	20	2	M	33,3	1,66
25	15	25	2	M	33,3	1,66
26	22	37	2	M	34,5	1,68
27	25	45	2	M	36	1,80
28	26	50	2	M	38,4	1,92
29	25	50	2	M	40	2
30	21	50	2	M	47,6	2,38
31	20	50	2	M	50	2,50
32	19	50	2	M	52,6	2,63

Souris		Lusitanicoside injecté en mg.	Durée de l'inject. minutes	Résultats V = vivante M = morte	Poids du lusitanicoside	
N ^o	Poids g.				rapporté à une souris de 20 g. en mg.	rapporté au kg. animal en g.
Sol. au 1/10 (1 cm ³ = 0 g., 10 de lusitanicoside)						
33	15	50	2	M	66,6	3,33
34	25	100	3	M	80	4
35	12	50	2	M	83,3	4,16
36	20	100	3	M	100	5
37	20	100	3	M	100	5

Pour des doses de 0 g., 44 à 1 g., 17 pour un kilogramme de matière vivante, sur treize souris, onze survivent et deux meurent (0 g., 83 et 1 g., 04) ; pour des doses de 1 g., 25 à 1 g., 68, six survivent et six succombent ; il y a donc une survie de 50 p. 100. Avec des doses de 1 g., 78 à 5 g., les douze souris meurent. Si l'on met à part les souris n^{os} 2 et 7, on peut schématiser ces essais dans le graphique suivant :

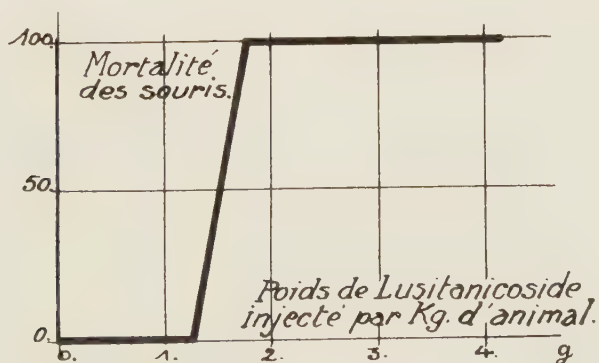


FIG. 1. — Essais de toxicité du lusitanicoside sur la souris blanche.

Le lusitanicoside est donc peu toxique, puisqu'il faut injecter plus de 1 g., 78 de produit par kilogramme d'animal pour déterminer sûrement la mort.

2. — *Action du lusitanicoside sur la glycémie et sur l'urémie du Chien. — Élimination urinaire du lusitanicoside.*

Les essais préliminaires suivants ont été institués en vue de contrôler la possibilité de rechercher, par voie polarimétrique, du lusitanicoside éventuellement contenu dans du sérum de Chien.

a) Du sérum de chien, déféqué par un volume égal d'une solution d'acide trichloracétique à 20 g. pour 100 cm³, a une déviation nulle.

b) Le mélange à volume égal d'une solution aqueuse de lusitanicoside à 2 g. pour 100 cm³ et d'acide trichloracétique à 20 g. pour 100 cm³ présente pour $l = 2$ une déviation de $\alpha = -1^{\circ}27'$. Calculé pour $[\alpha]_D$ de lusitanicoside $= -74^{\circ} : -1^{\circ}28'$.

c) Le mélange suivant :

Solution de lusitanicoside à 2 p. 100 4 cm³

Sérum de Chien 4 cm³

Acide trichloracétique à 20 p. 100 8 cm³

donne, après filtration, une déviation de $-44'$ ($l = 2$). Calculé : $-44'$.

Ces essais montrent qu'il est possible de rechercher et même de doser le lusitanicoside dans le défécât trichloracétique de sang de Chien. Dans ces conditions, on a institué l'expérience suivante :

On a utilisé une jeune chienne fox bâtardé, noire avec taches blanches, du poids de 5 kg., 4.

Une solution aqueuse de 2 g., 70 de lusitanicoside pour 80 cm³, additionnée de chlorure de sodium en quantité suffisante pour rendre le liquide isotonique est injectée tiède en cinq minutes dans la veine saphène droite. Cette solution représente 0 g., 50 de lusitanicoside par kilogramme d'animal.

Les recherches analytiques ont été effectuées sur le sang et sur l'urine.

SANG. — Du sang est prélevé dans le cœur gauche ; 1 cm³ est déféqué immédiatement pour le dosage de la glycémie (dosage effectué par la méthode de BAUDOIN-LEWIN), et le reste du prélèvement laissé au repos quelques minutes avant de séparer le sérum par centrifugation. Le sérum déféqué par un volume égal d'acide trichloracétique à 20 g. p. 100 cm³ est examiné au polarimètre et l'urée dosée. Voici les résultats obtenus avant et après l'injection de l'hétéroside.

Prélèvements effectués	Déviation $l = 2$	glycémie urémie g. pour 1.000	
5 jours avant expérience	0	1,05	0,29
2 » » »	0	1,08	0,40
10 minutes avant expérience	0 à + 2'	1,02	0,35
15 » après »	— 14'	1,22	0,30
30 » » »	— 12'	1,24	0,35
1 heure » » »	— 7'	1,21	0,35
3 » » »	0 à — 2'	1,00	0,45
24 » » »	0	0,95	0,25
5 jours » » »	0	1,08	0,37

Les déviations observées correspondent :

- 14' à 1 g., 57 de lusitanicoside p. 1.000 cm³ de sérum
 - 12' à 1 g., 36 » » » » »
 - 7' à 0 g., 78 » » » » »
- pour $[\alpha]_D = - 74^0$.

URINE. — L'urine a été recueillie dans une cage à métabolisme avant, pendant et après l'expérience.

Les jours précédant l'essai le volume était d'environ 350 cm³ p. 24 h. (moyenne de 8 jours). La réaction était acide et la densité de 1,020 à 1,030 ; l'urée a eu de grandes variations allant de 18 à 63 g., dues à un régime alimentaire souvent trop riche en viande et irrégulier. L'urine ne contenait ni sucre, ni albumine, ni dérivés glycuroniques. Après défécation par le sous-acétate de plomb, elle ne déviait pas la lumière polarisée. Traitée par l'acide sulfurique au cinquième, trois heures au bain-marie bouillant, elle ne contenait pas de substances actives au polarimètre ni sur la liqueur cupro-alcaline.

Le jour de l'expérience l'animal n'urine pas mais l'on trouve 300 cm³ d'urines le lendemain matin dans le bocal placé sous la cage. Cette urine est claire, limpide, de réaction acide, de densité 1,030, d'une teneur en urée 40 g. p. 1.000, non réductrice ; elle contient des traces d'albumine. Déféquée par un dixième de sous-acétate de plomb elle a une déviation de — 1°. La recherche des dérivés glycuroniques par la naphto-résorcine est positive (1).

(1) Si on admet que le lusitanicoside est la seule substance lévogyre de l'urine, il y aurait 2,03 g. de ce corps éliminé sur 2,70 g. injectés, mais la présence constatée de dérivés glycuroniques lévogyres ne permet pas de prendre ce chiffre en considération.

ESSAI D'HYDROLYSE. — Quelques cm^3 d'urine, additionnés d'un cinquantième d'acide sulfurique pur, mis en ampoules scellées, chauffées trois heures au bain-marie bouillant sont examinés après neutralisation par du carbonate de calcium et défécation au plomb, les résultats trouvés sont :

$$\alpha = + 4'$$

10 cm^3 réduisent comme 0 g., 0505 de glucose

Le lendemain l'animal paraît abattu, refuse toute alimentation. L'urine recueillie a un volume de 170 cm^3 , une réaction acide, une densité de 1,033 ; déféquée par un dixième de sous-acétate de plomb elle montre une déviation de $- 11'$ et réduit tardivement la liqueur cupro-alkaline. L'urée est à 51,6 g. ; il y a de l'albumine en quantité notable. La recherche des dérivés glycuroniques par la naphto-résorcine en suivant la technique de ROGER est nettement positive.

Les urines des deux jours suivants présentent toujours de l'albumine, des dérivés glycuroniques en quantité très notable avec un léger pouvoir rotatoire gauche.

Quelques jours après l'animal a repris son appétit et sa vivacité ; l'urine ne contient plus ni albumine, ni dérivés glycuroniques.

ESSAIS D'EXTRACTION DU LUSITANICOSIDE DE L'URINE. — Les urines du premier jour après l'injection sont additionnées d'un dixième de leur volume de sous-acétate de plomb et le liquide filtré privé de l'excès de plomb par l'acide sulfurique au dixième. Après neutralisation par le carbonate de calcium et filtration, il est distillé à sec avec précaution dans le vide.

L'extrait est repris à trois reprises avec 200 cm^3 d'éther acétique anhydre. Après refroidissement ces trois liquides avaient respectivement des déviations de $- 30'$, $- 10'$, $- 2'$ ($l = 2$). Les liquides réunis sont concentrés jusqu'à début de trouble et versés, bouillants, dans un flacon amorcé avec du lusitanicoside. Une cristallisation se fait rapidement sur l'amorce.

Ces cristaux sont recueillis, lavés à l'éther acétique, puis à l'éther, ils pèsent 0 g., 52.

Le corps ainsi recueilli est azoté. Il a été identifié à l'urée par son point de fusion, la réaction du biuret et sa décomposition par l'hypobromite de sodium.

Les jours suivants, il se forme de nouveaux cristaux en petites houppes lenticulaires qui pèsent 0 g., 18.

Ce corps a été identifié avec le lusitanicoside par son point de fusion et par son pouvoir rotatoire qui a été trouvé $[\alpha]_D = -73^{\circ},20$ ($v = 15 \text{ cm}^3$, $l = 2$, $p = 0\text{g.}$, 1627, $\alpha = -1^{\circ}6'$).

La solution mère est distillée à sec, le résidu obtenu repris par l'eau est traité par la poudre fermentaire de *Cer. lusitanica*. Après 5 jours à l'étuve à 33° la solution présente une déviation droite, elle est réductrice. Ce même liquide fournit un distillat dont le premier tiers a une odeur aromatique agréable de chavicol et donne un louche bleuâtre par addition de perchlorure de fer dilué.

De l'expérience qui vient d'être décrite on peut conclure que le lusitanicoside injecté par voie intraveineuse disparaît en moins de trois heures du courant circulatoire. Il semble entraîner une légère et très passagère augmentation des matières réductrices du sérum, il n'a pas d'action sur l'urémie. Il s'élimine par l'urine, une partie en nature que l'on peut extraire à l'état pur de ce liquide, l'autre sous forme de dérivés glycuroniques. Une irritation du rein se manifeste par l'apparition d'une albuminurie disparaissant quelques jours après l'injection.

3. *Lusitanicoside et coagulation du sang*

Nous avons recherché l'action du lusitanicoside sur la coagulation du sang chez un chien, avant et après l'injection de 0 g., 50 de cet hétéroside par kilogramme.

A. *Temps de saignement.* — L'oreille avait été épilée deux jours auparavant, puis lavée à l'eau savonneuse, à l'alcool et à l'éther. La légère incision effectuée était assez éloignée du réseau sanguin très apparent du pavillon, le sang était étanché avec du papier buvard jusqu'à cessation de la petite hémorragie.

temps de saignement avant l'injection :	5 minutes 15 secondes
temps	d ⁰ 2 heures après l'injection : 5 minutes 15 secondes.
temps	d ⁰ 24 heures après l'injection : 5 minutes 5 secondes.

B. *Temps de coagulation.* — a) Technique des lames : temps observé jusqu'à ce que les gouttes de sang déposées sur des lames de verre ne se déforment plus.

avant l'injection : 7 minutes 40 secondes.

2 h. après l'injection : 7 minutes 10 secondes.

24 h. après l'injection : 8 minutes.

b) Technique des tubes : du sang est recueilli dans de petits tubes de verre de 5 mm. de diamètre, le temps nécessaire pour que le tube puisse être retourné sans écoulement est de :

avant l'injection : 7 minutes.

2 h. après l'injection : 7 minutes 40 secondes.

24 h. après l'injection : 7 minutes 50 secondes.

Chez le Chien l'injection de 0 g., 50 de lusitanicoside par kilogramme n'entraîne donc pas de modifications sensibles sur les temps de saignement et de coagulation.

4. *Lusitanicoside et hémolyse*

Les hématies de 5 cm³ de sang de Chien, lavées à l'eau salée physiologique, sont mises en suspension dans 100 cm³ d'eau salée à 8 g. pour 1.000.

Dans des tubes à hémolyse, on dispose 1 cm³ d'une solution aqueuse de lusitanicoside de titre égal à 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 et 10 g. pour 100 cm³. Chaque tube reçoit alors 4 cm³ de la suspension globulaire précédente et le contenu mélangé soigneusement.

3 et 4 heures après les hématies reposent dans la moitié inférieure du tube et le liquide surnageant est incolore.

Un essai semblable effectué sur des hématies de Lapin a donné un résultat analogue.

Dans les conditions indiquées ci-dessus le lusitanicoside n'entraîne donc aucune hémolyse.

CHAPITRE II

ACTION PHARMACODYNAMIQUE DU LUSITANICOSIDE

A. — RECHERCHES SUR LE CHIEN

Les essais ont été effectués sur des animaux ayant reçu des doses de 0 g., 12 de chloralose par kilogramme ; l'anesthésique était dissous à chaud dans une solution de chlorure de sodium à 9 pour 1.000, qu'on injectait dans la veine saphène.

a) *Action sur la respiration.* — Une fine canule est introduite dans la trachée et reliée à un tambour de MAREY ; les modifications de la respiration s'inscrivent par un style, sur un cylindre recouvert d'un papier enfumé.

Sur la fig. 2, on trouve le tracé de la respiration d'un chien, avant, puis après injection intraveineuse de 0 g., 10 de lusitanicoside par kilogramme. En 1, on voit que la respiration s'accélère ; avant l'injection, le rythme est de dix respirations à la minute ; il passe ensuite à treize, soit une augmentation de 30 pour 100. La respiration augmente légèrement d'amplitude ; avant l'injection, celle-ci était en moyenne de 37 mm. ; elle atteint ensuite 43 mm.

On constate, en 2, que l'injection préalable d'atropine ne modifie pas sensiblement l'action du lusitanicoside ; de dix respirations à la minute, le rythme passe à treize après injection de l'hétéroside. L'amplitude, qui était de 45 mm. auparavant, baisse légèrement à 43 mm., puis atteint 49 mm. après quelques minutes.

b) *Action sur la pression artérielle.* — L'animal chloralosé étant fixé sur la table d'opération, on découvre au cou l'artère carotide gauche. Par l'intermédiaire d'une canule en verre introduite dans

la cavité de l'artère, un tube de caoutchouc relie la carotide à un manomètre à mercure. La pression artérielle est enregistrée sur un cylindre tournant recouvert de papier enfumé. Sur ce même papier, un chronographe JACQUET marque les secondes. L'injection de la solution de lusitanicoside se fait par la veine saphène. On voit, d'après les tracés des fig. 2 et 3, que l'injection intraveineuse de 0 g., 10 de lusitanicoside, par kilogramme, entraîne chaque fois une baisse de pression. Le retour à la normale, rapide d'après le tracé de la fig. 3, est plus lent, d'après celui de la fig. 2. L'injection préalable de sulfate d'atropine (en 2, fig. 2) ne modifie pas le phénomène.

c) *Action sur le cœur in situ* (méthode de suspension). — Le chien est soumis à la respiration artificielle. Sur la ligne médiane du thorax, on incise la peau et l'aponévrose en évitant les fibres musculaires ; l'incision va de deux centimètres au-dessous de la fourchette sternale jusqu'à l'appendice xyphoïde. A l'aide du costotome, on sectionne le sternum en son milieu, afin d'éviter les artères mammaires internes latérales, puis, s'aidant de l'écarteur de TUFFIER, on ouvre largement la cavité thoracique. Le péricarde est pincé et fendu dans toute sa longueur jusqu'à la base du cœur. A l'aide de l'aiguille de REVERDIN et d'une pince, les lèvres du péricarde sont fixées par quatre points de suture à l'ouverture thoracique ; le cœur repose ainsi sur le « lit péricardique » : L'auricule droit est fixé par un hameçon et un fil à un tambour de MAREY manipulateur ; il en est de même du ventricule droit. Les deux tambours manipulateurs sont reliés à deux tambours inscripteurs par des tubes de caoutchouc munis de soupapes. Les mouvements de l'oreillette et du ventricule sont inscrits à l'aide de deux styles sur un cylindre recouvert d'un papier enfumé. Voir la figure 4.

En 1, on constate une diminution nette de l'amplitude, après injection intraveineuse de 0 g., 10 de lusitanicoside par kilogramme d'animal.

Oreillette : avant l'injection, 11 à 12 mm. en moyenne ; après, 7 mm.

Ventricule : avant l'injection, 30 mm. en moyenne ; après, 22 à 23 mm.

On observe également un ralentissement net du rythme :

Oreillette : avant, moyenne au cm., 15 à 16 ; après, 11.

Ventricule : avant, moyenne au cm., 15 ; après, 11.

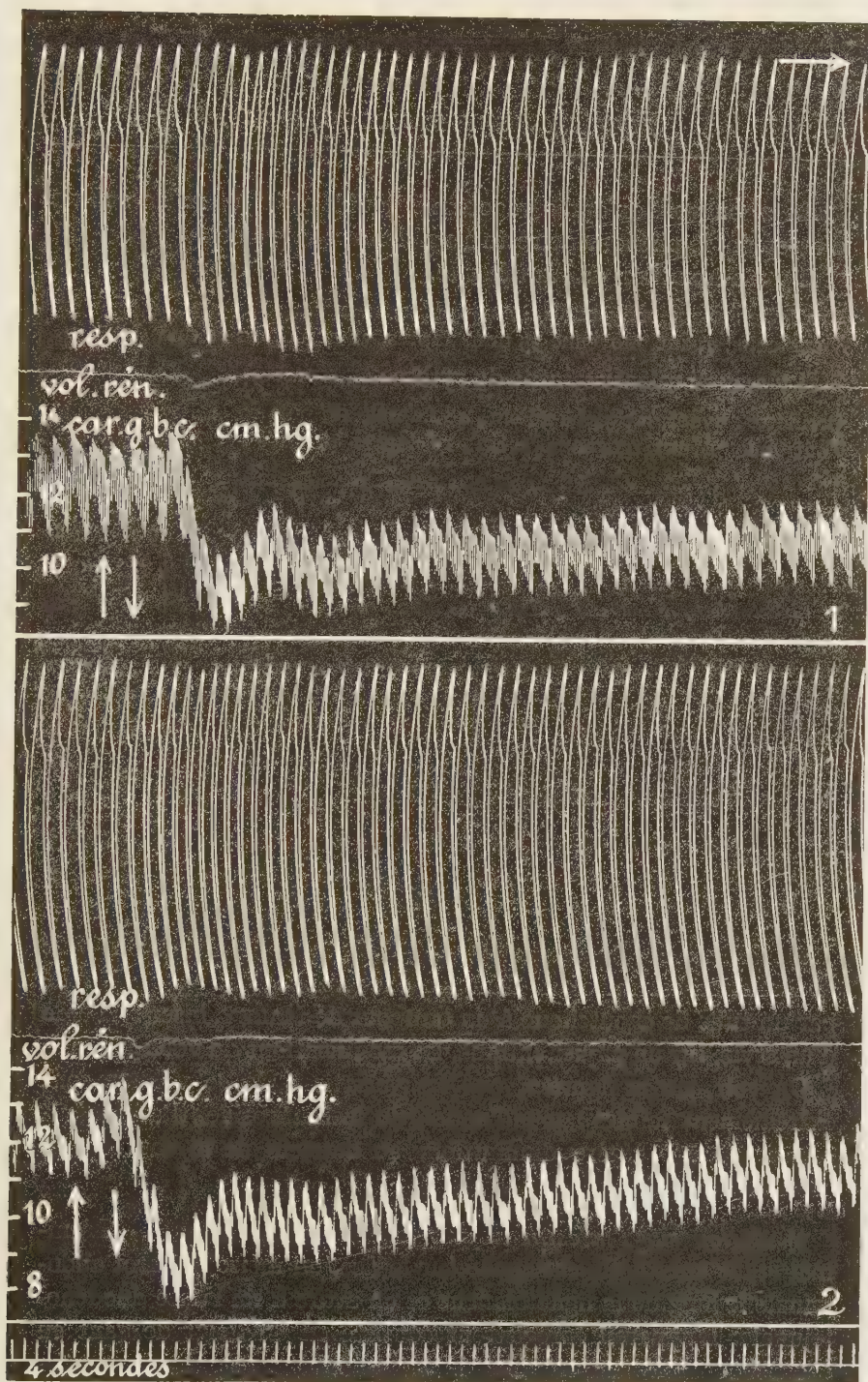


FIG. 2. — Action du lusitanicoside sur la respiration, le volume rénal et la pression artérielle.

1. — En $\uparrow\downarrow$, injection de 0 g., 10 par kg. (0 g., 60 dissous dans 10 cm³ d'eau salée physiologique) dans la veine saphène d'un chien, fox adulte, pesant 6 kg., 2.
2. — En $\uparrow\downarrow$, *idem*, après injection intraveineuse de 0 mg., 25 de sulfate d'atropine par kg. d'animal.

En 2, on voit qu'après vagotomie double et injection de sulfate d'atropine, le phénomène reste sensiblement le même.

Il y a diminution de l'amplitude.

Oreillette : avant, moyenne 17 mm. ; après, 12 mm., puis 9 mm.

Ventricule : avant, moyenne 35 mm. ; après, 31 mm., puis 28 mm.

Il y a aussi ralentissement du rythme.

Oreillette : avant, moyenne au cm., 18 ; après, 12, puis 10.

Ventricule : avant, moyenne au cm., 18 ; après, 13, puis 11.

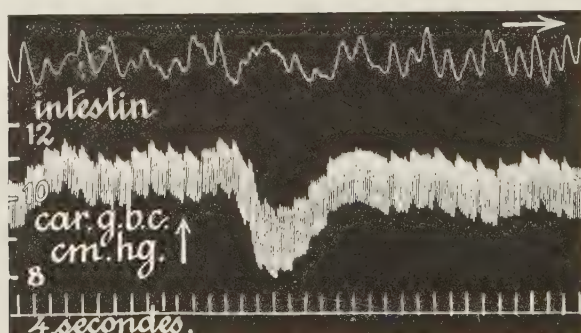


FIG. 3. — Action du lusitanicoside sur l'intestin (in situ) et sur la pression artérielle.

En ↑, injection de 0 g., 10 p. kg. (0 g., 55 dissous dans 5 cm³ d'eau salée physiologique) dans la veine saphène d'une chienne, fox adulte, pesant 5 kg., 5.

d) *Action sur le volume rénal.* — Un rein, atteint par la voie abdominale, est introduit dans un oncographe ; cet appareil, relié par un tube de caoutchouc à un tambour de MAREY, inscrit à l'aide d'un style, sur un papier enfumé, les modifications du volume rénal.

On voit, sur la figure 2, que les variations de ce volume sont extrêmement faibles ; sous l'action du lusitanicoside, il se produit seulement une légère diminution, au moment de la chute de la pression artérielle.

e) *Action sur l'intestin in situ* (technique du ballon). — L'animal étant anesthésié et couché sur le dos, on incise la paroi abdominale le long de la ligne blanche et on attire à soi l'anse duodéno-jéjunale. L'appareil enregistreur consiste en un doigt de gant en caoutchouc fixé sur un tube de même substance ; doigt et tube sont remplis d'eau et l'extrémité libre du tube est oblitérée par une pince à forcipressure. Pour mettre en place le doigt de gant, on

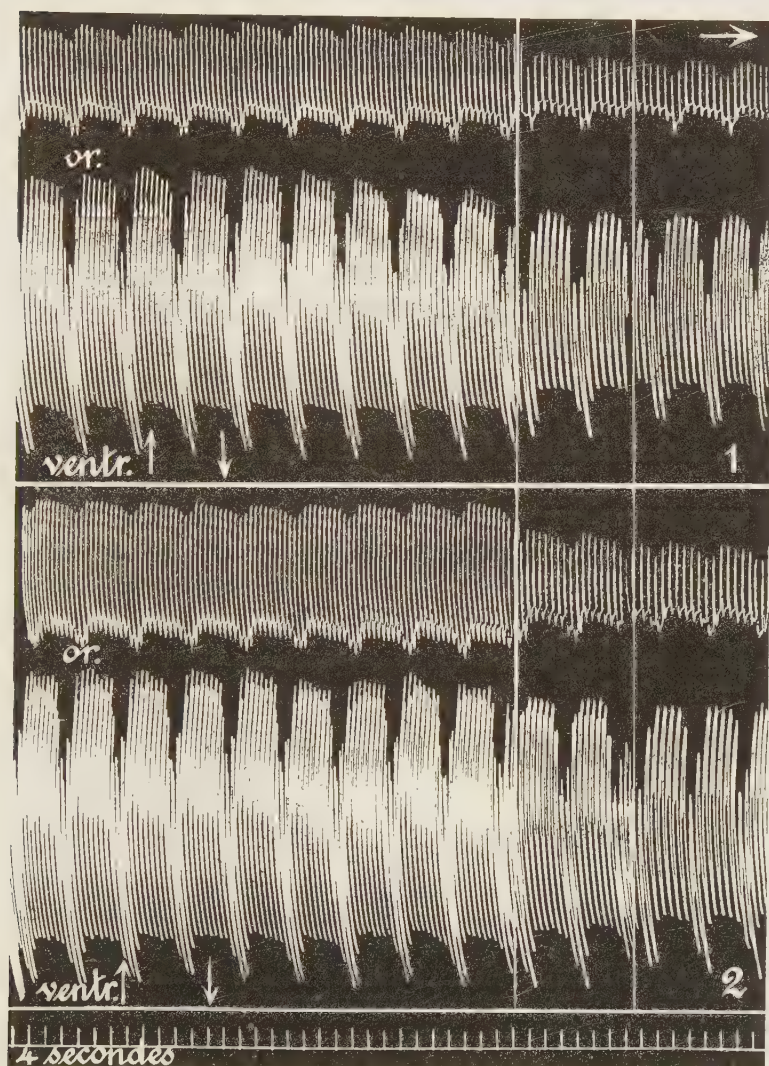


FIG. 4. — Action du lusitanicoside sur le cœur (in situ).

1. — En $\uparrow\downarrow$, injection de 0 g., 10 par kg. (0 g., 60 dissous dans 10 cm³ d'eau salée physiologique) dans la veine saphène d'une chienne, griffon adulte, pesant 5 kg., 5.
2. — En $\uparrow\downarrow$, *idem*, après vagotomie double et injection de sulfate d'atropine 0,5 mg. par kg. d'animal.

pratique sur l'intestin, perpendiculairement à l'axe, deux incisions distantes l'une de l'autre de dix centimètres environ. Par l'une des ouvertures, on introduit le tube en se servant de la pince comme tuteur. Quand l'extrémité du tube apparaît à l'autre ouverture, on la saisit avec une seconde pince, on enlève la première et on relie le tube de caoutchouc à la partie inférieure d'une ampoule à décantation remplie à moitié de liquide ; on enlève la pince et on ouvre le robinet de l'ampoule. Par pression sur le doigt de gant, on expulse une partie du liquide et on attire doucement le tube jusqu'à ce que le doigt se soit étalé dans la lumière de l'intestin. Celui-ci refermé, on le replace dans l'abdomen dont les lèvres de la plaie sont rapprochées par une pince. La partie supérieure de l'ampoule à décantation communique avec un tambour inscripteur de MAREY ; le liquide, puis l'air, transmettent les mouvements de l'intestin au style du tambour.

Le graphique supérieur de la figure 3 indique les mouvements intestinaux ; on voit que l'injection de lusitanicoside n'entraîne pas de modifications sensibles du rythme et de l'amplitude.

En résumé, l'injection de lusitanicoside, à la dose de 0 g., 10 par kilogramme d'animal, détermine, chez le chien chloralosé, une action dépressive nette sur la pression et les mouvements cardiaques ; cette action dépressive n'est pas modifiée par l'atropine ou la vagotonie double. L'abaissement de la pression artérielle coïncide avec une accélération de la respiration et une légère augmentation de l'amplitude respiratoire.

B. — ACTION DU LUSITANICOSIDE SUR L'ŒIL ÉNUCLÉÉ DE GRENOUILLE

Pour l'étude des substances mydriatiques ou myotiques, Jeanne LÉVY et René HAZARD (1) ont utilisé l'œil de Grenouille privé de ses connexions nerveuses.

On décapite la grenouille. A l'aide de ciseaux, on incise latéralement l'orbite ; on saisit avec une pince la peau de la paupière et, à petits coups de ciseaux, on dégage l'œil de toutes les membranes accessoires. L'œil qui ne doit avoir subi aucune lésion est placé dans un verre de montre contenant du liquide de RINGER. On opère de même pour l'autre œil. Les deux yeux sont exposés à une lumière

(1) LÉVY J. et HAZARD R., « Action de quelques mydriatiques sur l'œil énucléé de Grenouille » ; *Arch. intern. Pharm. et Thér.*, **36**, 26, 1929.

assez forte pour provoquer un certain degré de myosis, puis on les place à l'abri de la lumière directe et on les maintient à la même intensité lumineuse jusqu'à la fin des déterminations.

Après un repos de vingt minutes, les yeux sont sortis du liquide de RINGER. On porte au contact des bords de la pupille les pointes d'un tire-ligne et on mesure, sur une règle graduée, l'écartement de ces pointes. Pour augmenter la précision des mesures, ces opérations se font sur la platine d'une loupe binoculaire. On obtient ainsi les deux diamètres, L longitudinal et l transversal de la pupille ; la surface de l'ellipse pupillaire est donnée par la formule $S = \frac{(L \times l) \pi}{4}$.

La surface pupillaire normale des deux yeux étant déterminée, on place l'œil témoin dans le liquide de RINGER et l'œil servant à l'expérience dans la solution contenant le corps à essayer ; cette solution est rendue isotonique par addition de chlorure de sodium ; l'œil doit baigner complètement dans le liquide. Pendant une heure environ, à intervalles réguliers, toutes les cinq ou dix minutes, on mesure les surfaces pupillaires.

Quatre expériences ont été faites en utilisant une solution aqueuse de lusitanicoside au dixième ; dans toutes, on a observé une action myotique nette, mais peu intense.

Voici les résultats de deux expériences :

Expérience 1			Expérience 2		
Temps min.	Surface pupillaire		Temps min.	Surface pupillaire	
	Œil témoin	Œil en expérience		Œil témoin	Œil en expérience
	mm ²			mm ²	
0	3,43	3,43	0	5,89	5,89
5	3,43	3,09	5	5,89	5,89
10	2,65	2,65	10	5,89	5,89
15	2,65	2,65	15	5,89	5,89
20	2,65	2,65	20	5,89	5,89
	RINGER	lusitanicoside		RINGER	lusitanicoside
25	2,65	1,57	25	5,89	5,89
30	2,65	1,57	30	5,89	5,89
35	2,65	1,57	35	5,89	4,80
40	2,65	1,57	40	5,89	5,29
45	2,65	1,57	45	5,89	5,89
50	2,65	2,20	50	5,89	5,89
55	2,20	2,30	55	5,89	5,89
60	1,57	2,65	60	5,89	5,89

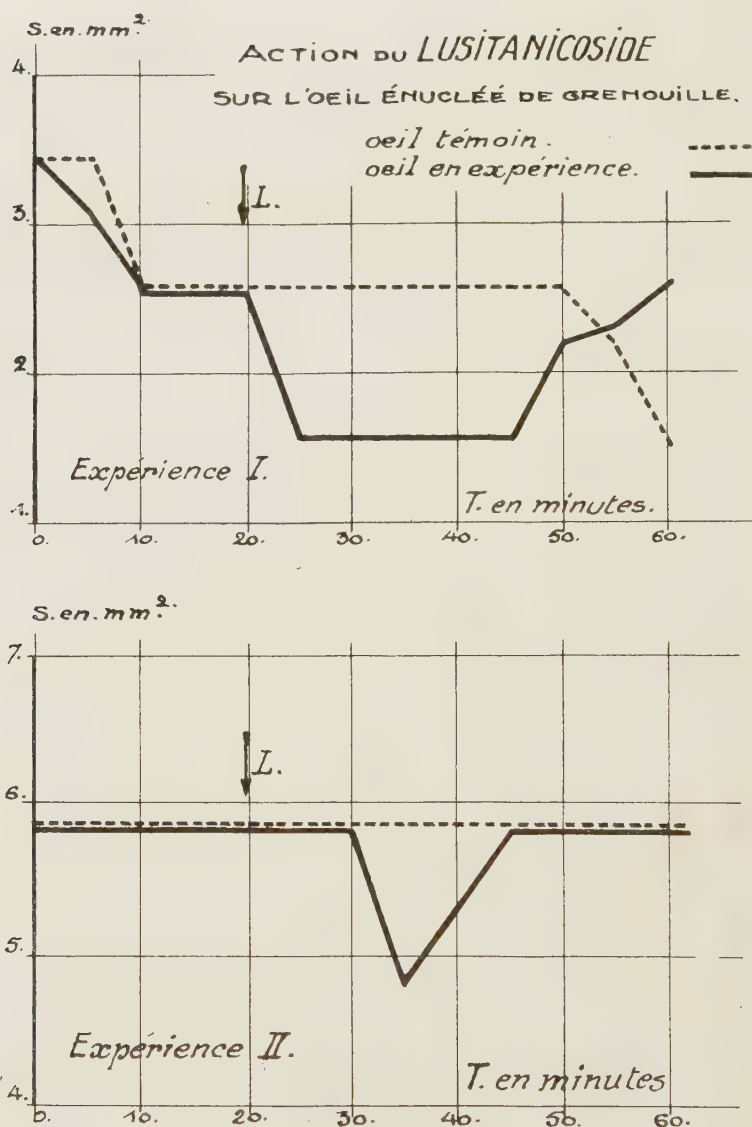


FIG. 5. — Influence du lusitanicoside sur l'œil énucléé de Grenouille.

(En $\downarrow$ L., l'œil en expérience est placé dans la solution de lusitanicoside.)

CHAPITRE III

ACTION DU LUSITANICOSIDE SUR LA CHRONAXIE

Ces recherches ont été effectuées sur le muscle lisse (pied d'Escargot), sur le muscle strié et sur le nerf (gastrocnémien et nerf sciatique de Grenouille).

1^o *Action sur le pied d'Escargot.* — Nous avons utilisé le chronaximètre de L. LAPICQUE et opéré suivant les données classiques. Le pied d'Escargot sectionné est laissé au repos durant deux heures dans un mélange à parties égales d'hémolymphe et de liquide de RINGER (1). Le pied est disposé dans une cellule de paraffine sur une plaque d'argent chloruré constituant l'anode, la cathode étant un fil d'argent fiché dans le muscle.

La solution de lusitanicoside était à 1 p. 100 dans le liquide de RINGER.

Les quatre expériences effectuées sont réunies dans le tableau suivant :

(1) Nous avons utilisé la formule de RINGER donnée par J. RÉGNIER, *Thèse doct. méd.*, Paris, 1929, Brulliard, Saint-Dizier.

<i>Temps</i>	<i>Voltage rhéobasique en millièmes de la source</i>	<i>Chro- naxie en σ</i>	<i>Temps</i>	<i>Voltage rhéobasique en millièmes de la source</i>	<i>Chro- naxie en σ</i>
<i>Expérience I</i>			<i>Expérience II</i> <i>tension 7 volts</i>		
15 h. 35	310	7,25	16 h.	90	2
16 h. 05	330	7	16 h. 25	90	2,25
16 h. 35	330	7,25	16 h. 40	90	2,25
16 h. 40	Lusitanicoside à 1 p. 100		16 h. 45	Lusitanicoside à 1 p. 100	
16 h. 45	260	5,5	16 h. 55	80	2
17 h. 05	210	4,25	17 h. 15	80	1,5
17 h. 30	200	4,50	17 h. 40	100	1,75
17 h. 50	230	4,50	18 h. 10	80	1,50
	Lavage au Ringer			Lavage au Ringer	
18 h. 20	290	6,25	18 h. 30	80	2,25
18 h. 40	300	6,75			
<i>Expérience III</i>			<i>Expérience IV</i>		
15 h. 15	110	4	15 h. 20	270	3
15 h. 25	120	4	15 h. 30	260	3,25
15 h. 30	120	4	15 h. 56	270	3,25
15 h. 55	Lusitanicoside à 1 p. 100		16 h.	Lusitanicoside à 1 p. 100	
16 h. 05	110	3,5	16 h. 10	290	2,25
16 h. 20	100	2,5	16 h. 25	260	1,75
16 h. 35	110	2,5	16 h. 45	260	1,50
16 h. 55	130	2,75	17 h. 10	230	1,50
17 h. 20	140	3	17 h. 35	270	1,50
17 h. 40	110	3		Lavage au Ringer	
17 h. 50	120	3	18 h. 15	300	3,5
	Lavage au Ringer				
18 h. 20	150	4	18 h. 45	280	3,25
18 h. 50	130	4			

En résumé dans ces quatre expériences :

1^o il n'y a pas de variation bien marquée de la rhéobase ;

2^o il y a une diminution de la chronaxie dans tous les cas, avec retour à la normale par lavage au RINGER.

2^o *Action sur le gastrocnémien et le nerf sciatique de Grenouille.* — Nous avons utilisé le montage classique des condensateurs sur la préparation nerf sciatique-gastrocnémien. Cette préparation étant conservée une heure au repos en contact avec du

liquide de RINGER dans une boîte de PETRI avant d'être transportée dans la cellule à excitation.

Nous avons effectué six expériences. Les voici réunies dans les tableaux suivants :

NERF		Temps	MUSCLE	
Voltage rhéobasique (*)	Chronaxie en σ		Voltage rhéobasique	Chronaxie en σ
I				
34	110	15 h. 20	140	130
24	110	15 h. 30	130	130
	Lusitanicoside à 1 p. 100.			
33	100	15 h. 45	130	110
34	70	15 h. 55	140	120
38	90	16 h. 05	170	120
35	80	16 h. 20	170	120
37	90	16 h. 30	210	120
80	110	16 h. 40	220	120
110	110	16 h. 50	240	130
II				
27	120	17 h. 15	130	160
23	123	17 h. 25	120	150
	Lusitanicoside à 1 p. 100.			
39	120	17 h. 40	180	160
39	110	17 h. 50	200	130
39	90	18 h.	240	140
36	90	18 h. 10	280	150
37	122	18 h. 20	290	170
43	100	18 h. 30	250	150
45	120	18 h. 40	350	150
55	120	18 h. 50	350	160
III				
70	130	17 h. 15	180	150
65	120	17 h. 25	190	150
	Lusitanicoside à 1 g. p. 100.			
35	130	17 h. 40	250	150
45	120	17 h. 50	270	150
36	70	18 h.	270	150
37	120	18 h. 10	230	150
100	70	18 h. 20	250	140
60	70	18 h. 30	320	170
60	70	18 h. 40	260	140

(*) En millièmes de la source — Tension 14 volts.

NERF			MUSCLE	
Voltage rhéobasique	Chronaxie en σ	Temps	Voltage rhéobasique	Chronaxie en σ
IV				
50	83	16 h. 15	50	83
46	85	16 h. 35	200	81
43	72	16 h. 50	220	88
39	78	17 h. 05	230	89
	Lusitanicoside à 1 g. p. 100.			
54	54	17 h. 25	280	122
55	59	17 h. 40	300	142
76	58	17 h. 50	300	130
ne répond plus aux excitations		18 h. 05	360	142
		18 h. 15	390	190
		18 h. 25	400	160
		18 h. 45	490	160
V				
53	67	17 h. 10	90	51
49	63	17 h. 20	170	68
42	63	17 h. 35	160	74
	Lusitanicoside à 1 g. p. 100.			
41	84	17 h. 50	240	110
43	80	18 h.	260	89
43	73	18 h. 15	280	75
42	68	18 h. 25	260	85
48	66	18 h. 35	280	95
43	68	18 h. 45	300	140
51	62	18 h. 55	320	130
VI				
Nerf sectionné		16 h.	80	56
»		16 h. 10	100	60
»		16 h. 20	110	61
»Lusitanicoside à 1 p. 100.				
»		16 h. 30	110	58
»		16 h. 40	180	150
»		16 h. 50	170	130
»		17 h.	180	150

CONCLUSIONS RELATIVES A LA II^e PARTIE DU TRAVAIL.
(RECHERCHES PHYSIOLOGIQUES)

Le lusitanicoside est peu toxique ; ce fait découle d'expériences faites sur la Grenouille et la Souris blanche, chez cette dernière il faut injecter plus de 1 g., 78 p. kg. pour entraîner sûrement la mort.

Chez le Chien le lusitanicoside semble entraîner une légère et très passagère augmentation des substances réductrices du sérum, il n'a pas d'action sur l'urémie, il disparaît en moins de trois heures du courant circulatoire. Il s'élimine par l'urine, une partie *en nature*, une partie sous forme de dérivés glycuroniques.

Sur le sang de Chien le lusitanicoside n'est pas hémolysant et ne modifie pas sensiblement la durée de la coagulation.

Injecté dans les veines du Chien chloralosé à la dose de 0 g., 10 par kilogramme, le lusitanicoside entraîne une action dépressive nette sur la pression artérielle et les mouvements cardiaques, non modifiée par l'atropine ou la vagotomie. L'abaissement de la pression artérielle coïncide avec une accélération et une légère augmentation de l'amplitude respiratoire.

Sur l'œil énucléé de Grenouille on a trouvé une action myotique nette mais peu intense.

Les modifications de l'excitabilité électrique du muscle lisse (pied d'Escargot) sous l'action du lusitanicoside sont caractérisées par une diminution de la chronaxie sans variation bien marquée de la rhéobase. Sur le muscle strié et le nerf (gastrocnémien et sciatique de Grenouille) on obtient dans le cas du nerf une augmenta-

tion de la rhéobase avec diminution de la chronaxie, pour le muscle une augmentation constante de la rhéobase accompagnée parfois d'une élévation de la chronaxie.

Ces essais peuvent se résumer de la façon suivante :

Action sur le nerf.

1. Augmentation à peu près constante de la rhéobase au moins vers la fin de l'expérience.
2. Diminution de la chronaxie (sauf dans une expérience) suivie ou non d'un retour spontané au normal.

Action sur le muscle.

1. Augmentation constante et souvent considérable de la rhéobase.
2. La chronaxie augmente ou reste inchangée : elle paraît surtout ne pas changer lorsque la chronaxie du nerf subit un abaissement marqué.

BIBLIOGRAPHIE

- BOURQUELOT (Em.). — Recherche, dans les végétaux, du sucre de canne à l'aide de l'invertine et des glucosides à l'aide de l'émulsine ; *C. R. Soc. Biol.*, III, 900, 1901 ; *C. R. Ac. Sc.*, CXXXIII, 690, 1901 ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], XIV, 481, 1901.
- CHARAUX (Ch.). — Sur le dédoublement biochimique de la rutine. — Rutinose, nouveau biose provenant de ce dédoublement ; *Bull. Soc. Chim. biol.*, VI, 631, 1924.
- FISCHER (Em.). — Ueber ein neues dem Amygdalin ähnliches Glucosid ; *Ber. chem. Ges.*, XXVIII, 1508, 1895.
- GRIGNARD (V.). — Sur le dédoublement des éthers-oxydes de phénols par les organo-magnésiens mixtes ; *C. R. Ac. Sc.*, CLI, 322, 1910.
- HÉRISSEY (H.). — Présence de l'amygdonitrileglucoside dans le *Cerasus Padus* DELARB. ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [6], XXVI, 194, 1907.
- HÉRISSEY (H.). — Sur le lusitanicoside ; *C. R. Ac. Sc.*, CXCVIII, 265, 1934 ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [8], XIX, 425, 1934 ; *Bull. Soc. Chim. biol.*, XVI, 527, 1934.
- HÉRISSEY (H.) et LAFOREST (J.). — Sur un hétéroside extrait du Laurier de Portugal, *Cerasus lusitanica* LOIS. ; *C. R. Ac. Sc.*, CXCIV, 1095, 1932 ; *Bull. Soc. Chim. biol.*, XV, 350, 1933.
- HÉRISSEY (H.) et POIROT (G.). — Sur l'huile de semence de Laurier de Portugal ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [9], II, 97, 1942.
- HÉRISSEY (H.), POIROT (G.) et RABATÉ (J.). — Présence dans les rameaux feuillus de Laurier de Portugal, *Cerasus lusitanica* LOIS., d'un complexe fournissant de l'acide vanillique et de l'acide protocatéchique ; *Journ. Pharm. et Chim.*, [8], XXIX, 337, 1939.
- LÉVY (M^{lle} J.) et HAZARD (R.). — Action de quelques mydriatiques sur l'œil énucléé de Grenouille ; *Arch. intern. Pharm. et Thér.*, **36**, 26, 1929.
- RAMART-LUCAS (M^{me}) et RABATÉ (J.). — Structure des hétérosides d'après leur absorption dans l'ultra-violet ; *Bull. Soc. Chim.* [5], **2**, 1624, 1935.
- ZZMPLÉN (G.) et GERECs (A.). — Synthese des Lusitanicosids (Chavicol- β rutinoids), des Glykosids aus *Cerasus lusitanica* LOIS ; *Ber. chem. Ges.*, **70**, 1098-1101, 1937.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	I
------------------------	---

PREMIÈRE PARTIE

RECHERCHES CHIMIQUES

Chapitre I. — LE LUSITANICOSIDE, HÉTÉROSIDE EXTRAIT DU LAURIER

DE PORTUGAL	3
Extraction du lusitanicoside	7
Propriétés physiques	9
Propriétés chimiques	10
Hydrolyse par les acides	10
Hydrolyse fermentaire	11
Détermination de la constitution du lusitanicoside	13
Hydrolyse du lusitanicoside par l'acide sulfurique dilué	13
Isolement et caractérisation du glucose <i>d</i>	14
Isolement et caractérisation du rhamnose	14
Isolement et caractérisation de l'aglycone	15
Dérivé benzoylé de l'aglycone du lusitanicoside	15
Dérivé méthylé de l'aglycone du lusitanicoside	17
Analyses élémentaires de l'aglycone du lusitanicoside	20
Déterminations analytiques sur le dérivé benzoylé de l'aglycone du lusitanicoside	20
<i>a</i>) Analyse élémentaire	20
<i>b</i>) Saponification du benzoylaglycone	21
Constitution chimique du lusitanicoside	22

Chapitre II. — ACTION DE L'ÉMULSINE D'AMANDE SUR LE LUSITANICOSIDE

25

Chapitre III. — PRÉSENCE DANS LE LAURIER DE PORTUGAL DE PRINCIPES IMMÉDIATS FOURNISSANT DE L'ACIDE VANILLIQUE ET DE L'ACIDE PROTOCATÉCHIQUE

27

<i>Chapitre IV. — LES PRINCIPES CYANOGENÉTIQUES DANS LE LAURIER DE</i>	
PORTUGAL	30
Feuille	30
Inflorescence	31
Graine	32
<i>Chapitre V. — L'HUILE DE SEMENCE DU LAURIER DE PORTUGAL.</i>	
	35

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES PHYSIOLOGIQUES SUR LE LUSITANICOSIDE

<i>Chapitre I. — TOXICITÉ : ÉLIMINATION. ABSENCE D'ACTION SUR L'HÉ-</i>	
MOLYSE ET LE TEMPS DE COAGULATION DU SANG	39
1. <i>Toxicité. — Essais sur la Grenouille et sur la Souris blanche,</i>	39
A. Essais sur la Grenouille	39
B. Essais sur la Souris blanche	40
2. <i>Action du lusitanicoside sur la glycémie et l'urémie du Chien</i>	42
Élimination urinaire du lusitanicoside	42
Recherches dans le sang	42
Recherches dans l'urine	43
Extraction du lusitanicoside de l'urine	44
3. <i>Lusitanicoside et coagulation du sang</i>	45
4. <i>Lusitanicoside et hémolyse</i>	46
<i>Chapitre II. — ACTION PHARMACODYNAMIQUE DU LUSITANICOSIDE</i>	
A. <i>Recherches sur le Chien.</i>	47
a) action sur la respiration	47
b) action sur la pression artérielle	47
c) action sur le cœur <i>in situ</i>	48
d) action sur le volume rénal	50
e) action sur l'intestin <i>in situ</i>	50
B. <i>Action du lusitanicoside sur l'œil énucléé de Grenouille</i>	52
<i>Chapitre III. — ACTION DU LUSITANICOSIDE SUR LA CHRONAXIE</i>	
1° <i>Action sur le pied d'Escargot.</i>	55
2° <i>Action sur le gastrocnémien et le nerf sciatique de Grenouille</i>	56
CONCLUSIONS RELATIVES A LA II ^e PARTIE	
	59
BIBLIOGRAPHIE	
	61

Vu : *Le Doyen,*
A. BAUDOUIN.

Vu : *Le Président de thèse,*
A. BAUDOUIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
GILBERT GIDEL.

